Seroepidemiologische Untersuchungen zur Brucella canis-Infektion bei Haushunden und Menschen aus Süddeutschland

Arno Wintermantel

1980

Aus der Sektion für Infektionskrankheiten
Department Innere Medizin der Universität Ulm
(Leiter: Professor Dr. E. Vanek)

Vorgelegt über das Institut für Medizinische
Mikrobiologie Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
(Vorstand: Professor Dr. DDr. h. c. A. Mayr)

Seroepidemiologische Untersuchungen zur Brucella canis-Infektion bei Haushunden und Menschen aus Süddeutschland

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Arno Wintermantel
aus
Freiburg

München 1980

Gedruckt mit Genehmigung
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. DDr. h. c. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. M. Rüsse

Tag der Promotion: 29. Februar 1980

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Schrifttum	
2.1.	Brucellose bei Tieren	2
2.2.	Brucella melitensis-, abortus- und suis-Infektionen beim Hund	6
2.3.	Brucella melitensis-, abortus- und suis-Erkrankungen beim Menschen . . .	7
2.4.	Brucella canis	
2.4.1.	Geschichte	11
2.4.2.	Ätiologie	12
2.4.3.	Epizootiologie	15
2.4.4.	Pathogenese	19
2.4.5.	Klinisches Bild beim Hund	20
2.4.6.	Klinisches Bild beim Menschen	22
2.4.7.	Diagnose	23
2.4.8.	Therapie - Bekämpfung - Prophylaxe . . .	26
3.	Eigene Untersuchungen	
3.1.	Material und Methoden	
3.1.1.	Herkunft der Seren	
3.1.1.1.	Hundeseren	28
3.1.1.2.	Menschliche Seren	29
3.1.2.	Antigene und Antigenherstellung	
3.1.2.1.	Brucella canis	30
3.1.2.2.	Brucella abortus	33
3.1.3.	Antikörpernachweise	
3.1.3.1.	Serumlangsamagglutinations-Test	33
3.1.3.2.	Merkaptoäthanol-Test	35
3.1.3.3.	Komplementbindungsreaktion	36

Seite

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Serologische Befunde Hundeseren 37
Antikörpertiter gegen B.canis-Antigen
Antikörpertiter gegen B.abortus-Antigen

3.2.2. Serologische Befunde menschliche Seren . 42
Antikörpertiter gegen B.canis-Antigen
Antikörpertiter gegen B.abortus-Antigen

3.3. Diskussion 46

4. Zusammenfassung 51

5. Literaturverzeichnis 53

Lebenslauf

1. Einleitung

Brucellose ist als Infektionskrankheit in den Tierzuchtgebieten der ganzen Welt gefürchtet. Seuchenhaft auftretende Aborte und Wertminderungen bei Nutztieren sowie schwere menschliche Erkrankungen machen Brucellose zu einer der ökonomisch bedeutsamsten Zoonosen der Erde. Die Weltgesundheitsorganisation bekämpft deshalb die Brucellose weltweit.

Hunde können sich nach Kontakt mit verseuchten landwirtschaftlichen Nutztieren mit B.abortus, B.melitensis und B.suis infizieren und erkranken. Diese Form der Hundebrucellose ist jedoch mit dem Rückgang dieser Seuche bei den Nutztieren gesunken.

Im Jahre 1968 ist bei Hunden eine selbständige Form der Brucellose mit einem originären Erreger, Brucella canis, beschrieben worden, der erstmals in Beagle-Zuchten der USA seuchenhaftes Verwerfen verursachte. B.canis konnte auch von Straßen-und Haushunden isoliert werden. Beunruhigend war die Tatsache, daß in den USA menschliche B.canis-Erkrankungen auftraten, die auf damit infizierte Hunde, die in Familien gehalten wurden, zurückzuführen waren. Dazu kamen alarmierende B.canis-Infektionsraten aus einigen Ländern Mittel- und Südamerikas.
In Europa wurden in der Bundesrepublik Deutschland und in der CSSR von 1973 - 1977 B.canis-Infektionen in Beaglezwingern serologisch und kulturell nachgewiesen. Über die Verbreitung der Infektion sind dagegen nur wenige Untersuchungen bekannt.

Vorliegende Arbeit soll einen seroepidemiologischen Beitrag zur Verbreitung der B.canis-Infektion bei Haushunden und Menschen aus Süddeutschland liefern.

2. Schrifttum

2.1. Brucellose bei Tieren

Brucellose wurde schon relativ früh als bakterielle Infektionskrankheit erkannt: 1887 entdeckt DAVID BRUCE den Erreger des Maltafiebers, "Micrococcus melitensis" (BRUCE, 1887); 1895 sehen BANG und STRIBOLDT in Kopenhagen in kleinen stäbchenförmigen Bakterien die Ursache für seuchenhaftes Verkalben bei Rindern (BANG, 1897); 1914 findet TRAUM ähnliche Keime bei Schweineaborten (TRAUM, 1914).

Nach ALTON et al.(1975) werden heute 6 Brucella-Spezies mit spezifischen Wirten in der Gattung Brucella unterschieden:

1. B.melitensis mit 3 Biotypen bei Schafen, Ziegen, gelegentlich auch bei Rindern;
2. B.abortus mit 9 Biotypen bei Rindern;
3. B.suis mit 4 Biotypen; die ersten 3 bei Schweinen, Biotyp 2 auch Hasen (Lepus europaeus), Biotyp 4 bei Rentieren (Rangifer tarandi);
4. B.neotomae bei Wüstenratten (Neotoma lepidae);
5. B.ovis bei Schafen;
6. B.canis bei Hunden.

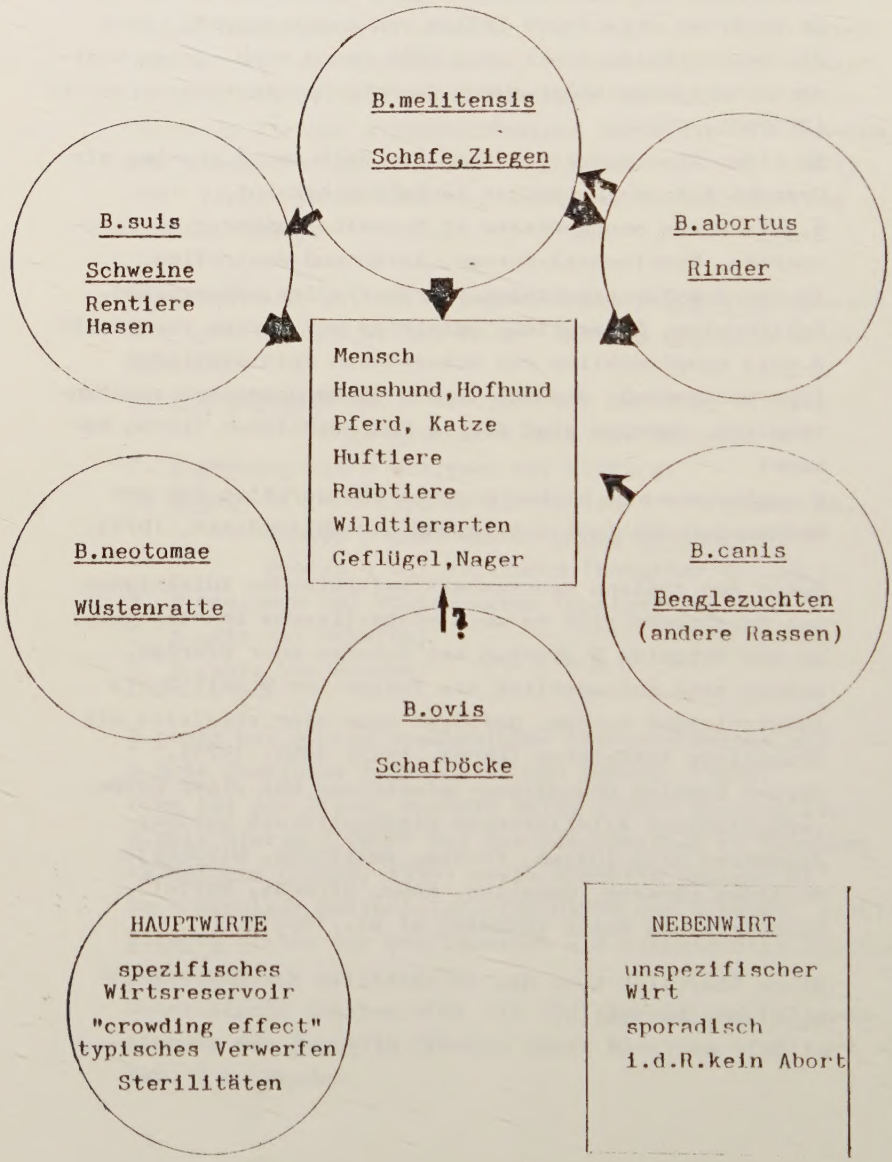
B.canis hat einige biochemische Charakteristika mit B.suis gemeinsam (CARMICHAEL und BRUNER, 1968). Dies ist der Grund, weshalb MEYER (1969) B.canis als B.suis Biotyp 5 führt und das Subcommittee of Taxonomy (WUNDT und MORGAN, 1975) sowie BERGEY's "Manual of Determinative Bacteriology"(BUCHANAN und GIBBONS, 1974) B.canis bisher nur provisorisch als selbständige Spezies aufnahmen.
Detaillierte Angaben über die Typisierung und Differenzierung der Brucella-Spezies nebst Biotypen sind in Tab. 2 zu finden.

Charakteristisch für Brucellose ist ihre Verbreitung bei fast allen domestizierten und wilden Tierarten.
Die Melitensis-Brucellose bei Schafen und Ziegen ist heute noch von großer Bedeutung in den Mittelmeerländern, im Vorderen Orient und Teilen von Lateinamerika. Ende des 2. Weltkrieges bis etwa 1964 waren auch einige westdeutsche Bundesländer durch Wanderschaftsherden verseucht (ZERFASS, 1964).
In allen Rinderzuchtgebieten der Welt ist B.abortus als Ursache für seuchenhaftes Verkalben bekannt.
B.suis wurde nachgewiesen in Schweinebeständen in Nordamerika, Kontinental-Europa, Asien und Australien.
In den Schafzuchtgebieten von Australien, Neuseeland, Californien, Südamerika, Ostafrika und Europa verursacht B.ovis hauptsächlich bei Schafböcken Epididymitiden (Spermatozelen); dadurch werden Böcke unheilbar zuchtuntauglich. Daneben sind Aborte bei weiblichen Tieren bekannt.
B.neotomae wurde bisher nur von Wüstenratten aus dem Westen der USA isoliert (ALTON und GULASKHARAM, 1974).

Neben den typisch seuchenhaft auftretenden Infektionen bei Haustieren gibt es auch unspezifische Erkrankungen, so zum Beispiel B.abortus bei Schafen oder Pferden. Katzen sind gelegentlich als Träger von B.melitensis identifiziert worden. Geflügel kann sich ebenfalls mit Brucellose infizieren (DENNY, 1972; ROUX, 1979).
Ferner konnten Brucellose-Infektionen bei einer Reihe verschiedener Wildtierarten diagnostiziert werden: Jagdbares Wild (Hasen, Füchse, Antilopen, Hirsche), Huftiere (Gemsen, Gazellen, Rehe, Hirsche, Büffel), Raubtiere und Nager (PARNASS et al.,1966).

Einen Überblick über die Infektketten der 6 Brucella-Spezies gibt Abb. 1.

Abb.1: INFEKTKETTEN DER 6 BRUCELLA-SPEZIES



Brucellose verursacht schwere wirtschaftliche Schäden in der tierischen Produktion durch hohe Abortraten, Sterilitäten bei weiblichen und männlichen Tieren sowie Verluste an Milch und Fleisch. Zahlen liegen vor aus den USA, wo im Jahre 1961 der Schaden allein durch B.abortus auf 25 Millionen Dollars geschätzt wird. In Frankreich wird für 1971 der Schaden durch Brucellose bei Rindern, Schafen und Ziegen mit 300 Millionen Francs angegeben (ROUX, 1979). Schätzungen von Schäden durch Brucellose für die Bundesrepublik Deutschland im Jahre 1957 liegen bei 66 Millionen US-Dollars.

Die Bekämpfung der Brucellose erfolgt jeweils nach dem Entwicklungsstand der einzelnen Länder.
In den ärmeren Entwicklungsländern geschieht dies mit Impfungen: Rinder werden gegen B.abortus mit den Stämmen Buck 19, H 38, S 45/20 vakziniert, Schafe und Ziegen gegen B.melitensis mit dem Stamm Rev.1 (ROUX, 1979).
In der Bundesrepublik ist die Impfung seit 1959 verboten.

In den meisten Industrieländern werden die Nutztiere regelmäßigen serologischen Untersuchungen unterworfen und Reagenten ausgemerzt. Der Antikörpernachweis erfolgt mit Hilfe des Brucella-Serumlangsamagglutinations-Tests (BSLA). Rinder und Ziegen sind ab 1:40 Titern positiv, Schafe bereits ab 1:20. Die Komplementbindungsreaktion kann ebenfalls verwendet werden, mit dieser Methode lassen sich hauptsächlich subklinische Infektionen nachweisen: Antikörpertiter ab 1:10 in der Mikromethode bei Kältebindung (0 - 4°C) gelten beim Tier als beweisend für das Vorliegen einer Brucellose-Infektion.
Ergänzende Diagnosemöglichkeiten sind die Abortus-Bang-Ringprobe nach FLEISCHHAUER für Kannenmilch und allergische Tests mit Brucellin, zum Beispiel die Augenprobe beim Schaf (ALTON et al.,1975; ROLLE und MAYR, 1978).
Dank drastischer veterinärpolizeilicher Maßnahmen sind heute eine Reihe von Ländern wieder "brucellosefrei", d.h.

das Vorkommen liegt unter 0,01 %. Hierzu gehören die Bundesrepublik Deutschland, Holland, Skandinavien und die Schweiz. Andere Länder streben dieses Ziel mit aller Macht an. England soll nach MORGAN (1977) im Jahre 1980 brucellosefrei sein. Ähnliche Bestrebungen sind in der UdSSR für einen späteren Zeitpunkt im Gange.

2.2. Brucella melitensis-, abortus- und suis-Infektionen beim Hund

In der Literatur werden Infektionen mit diesen Erregern in der Regel nur im Zusammenhang mit Enzootien bei den Nutztieren beschrieben. Die Verbreitung dieser Form der Brucellose bei Hunden ist eng verknüpft mit dem Vorkommen von Brucellose bei den Haustieren.
OSTERTAG und MAYER (1958) fanden zur Zeit der Melitensis-Brucellose in 50 infizierten Schafherden der Bundesländer Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg unter 162 Herdenhunden 31 Reagenten; der Erregernachweis gelang bei den positiven Hunden. Nach WESTPHAL (1959) ist der Prozentsatz der B.abortus-positiven Hunde abhängig vom Verseuchungsgrad der Rinderbestände. Die Verseuchung reicht von 11 % in schwach bis 33 % in stark befallenen Beständen. MORSE hat 1951 die im internationalen Schrifttum niedergelegten serologischen Untersuchungen zusammengefaßt. Danach reagierten von 1565 Hunden 241 (= 15,4 %) im Agglutinationstest positiv.

Als Infektionsquellen für den Hund gelten der Kontakt zu Brucellose-infizierten Rindern, Schafen, Ziegen und Schweinen bzw. das Auffressen derer Nachgeburtsteile. Für in Städten gehaltene Hunde kommt hauptsächlich das Verfüttern von ungekochten Schlachthofabfällen in Frage (HELLMANN und SPRENGER, 1978).

Nach KIMBERLING et al.(1966) sowie PANNWITZ und MEISSNER (1971) sollen B.abortus-Infektionen bei Hunden ohne Krankheitsanzeichen verlaufen. Entgegen dieser Beobachtung liegen andere Berichte verschiedener Autoren vor. Eine Kuvasz-Hündin, die sich mit infizierten Nachgeburtsteilen einer Kuh ansteckte, verwarf am 54. Trächtigkeitstag (SCHWARZ, 1954). Bei einem Labrador mit Abszessbildung in der Prostata und Orchitis konnten Brucellen aus dem Blasenurin isoliert werden (HALL,1974). Eine Bastardhündin mit Abort war noch ein halbes Jahr später in der Blutkultur positiv; bei einem Rüden mit Orchitis waren nach Kastration Brucellen im Hodengewebe nachgewiesen worden (EHRLEIN et al.,1963).
HELLMANN und SPRENGER (1978) konnten bei zwei Rüden mit Fieberschüben und Hoden- sowie Nebenhodenentzündungen serologisch Brucellose feststellen und B.suis Biotyp 1 isolieren. Nach Meinung dieser Autoren spielt der Hund eine Rolle in der Epidemiologie von B.abortus, B.suis und B.melitensis als Nebenwirt und trägt in der Regel nicht zur Verbreitung in der Infektionskette bei.

DEYOE (1970), KIMBERLING et al.(1966) sowie NICHOLETTI et al.(1967) halten den Hund für relativ resistent gegen die drei Brucella-Spezies, obwohl in den letzten 50 Jahren Berichte aus vielen Ländern gezeigt haben, daß gelegentlich Infektionen vorkommen können.

2.3. B.melitensis-, abortus- und suis-Erkrankungen beim Menschen

Menschliche Brucellose-Erkrankungen gibt es nur im Zusammenhang mit Brucellose bei den Tieren. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch ist praktisch nicht möglich. Die Hauptansteckungsquellen sind seine Haustiere, vor allem Schafe, Ziegen, Rinder, Büffel und Rentiere.

Besonders gefährdete Personenkreise sind Hirten, Schäfer und Tierärzte, ferner Metzger, Viehhändler, Landwirte und Laborpersonal. Die Ansteckungsmöglichkeiten sind vielfältig: Die meisten Brucellose-Infektionen basieren auf direktem Kontakt mit abortierten Früchten, Eihäuten oder Vaginalsekreten. Tierärzte infizieren sich in der Regel bei der Nachgeburtsabnahme, viel seltener bei der Behandlung verseuchter Rinder. Orale Infektionen über rohe Milch und unbehandelte Milchprodukte sind typisch für B.melitensis in den Mittelmeerländern Italien, Spanien und Griechenland (Weichkäse von Schaf und Ziege). Inhalationen von brucellenhaltigem Staub können ebenfalls zu Infektionen führen (Schafwolle, verseuchte Stallungen, Stroh, Viehtransporte).

Die Pathogenität für Menschen ist hoch bei B.melitensis und B.suis, geringer bei B.abortus und bisher keine bekannt bei B.neotomae und B.ovis. B.melitensis verursacht das Maltafieber, B.abortus Morbus Bang.
Brucellose-Patienten sind vorwiegend Jugendliche und jüngere Personen. In den meisten Fällen verläuft die Krankheit akut und kurz mit günstiger Prognose; bei einem geringeren Prozentsatz dauert die Krankheit länger. Gefürchtet sind bei etwa 10 % der Patienten die Komplikationen, die zur chronischen Brucellose führen.

Die Inkubationszeit beträgt 1-3 Wochen, in Ausnahmen bis zu 7 Monaten. Im akuten Stadium sind die Symptome wenig typisch: Fieber, Müdigkeit, Kopf-, Kreuz-, Gliederschmerzen, Nachtschweiß, evtl. auch Schüttelfrost; die häufigste Fehldiagnose lautet "grippaler Infekt". Ein Teil der Patienten zeigt eine Lymphadenitis sowie Milz- und Leberschwellung. Im subakuten Stadium sind die Fieberschübe sporadisch, das oft beschriebene wellenförmige Fieber ("febris undulans") ist nur in Ausnahmefällen vorhanden. Ein Teil der Patienten ist bedroht durch Komplikationen

nach Brucellen-Ansiedelungen in den verschiedensten Organen. Bewegungsapperat (Spondylitis, Diskopathie, Arthritis), Nervensystem (Neuritiden, Meningoencephalitis bis hin zu psychotischen Erscheinungsbildern), Gefäßsystem (Thrombophlebitiden) und Geschlechtsorgane (Orchitis, Hodenatrophie) können verändert oder entzündet sein. Bei B.suis sind Abszessbildungen in Leber und Milz bekannt. Unter das Krankheitsbild der chronischen Brucellose fallen vom klinischen Standpunkt aus nur die Patienten, bei denen Krankheitsschübe über ein Jahr und länger auftreten und serologische Reaktionen positiv sind. Brucellose kann unter Umständen sogar zur Invalidisierung führen (PARNASS et al., 1966; VANEK, 1976).

Für die Diagnose am besten geeignet ist der Erregernachweis aus dem Blut während des akuten Stadiums; später gelingt er nur noch bei Fieberschüben aus dem Blut, aus Organen oder dem Knochenmark. Eine serologische Diagnose ist möglich durch Antikörperbestimmung mit der Brucella-Serumlangsamagglutination (BSLA) oder der Komplementbindungsreaktion (KBR). Als positiv werden Fälle angesehen, bei denen zwischer 1. und 2. Blutprobe (Serumpaar) ein Titeranstieg um mindestens das 4-fache nachweisbar ist. Bei Untersuchung von Einzelseren ist die Mindesttiterhöhe, von der ab ein Serum als positiv angesehen wird, umstritten wegen Boostertitern bei hyperergischen Personen (PARNASS, 1973; VANEK, 1976).
Zur Ergänzung sei ein allergisch kutaner Test mit Brucellin erwähnt (CASELITZ et al.,1975).

Für die Therapie empfiehlt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) während des akuten Stadiums eine Tetracyclin-Behandlung mit Mengen von 1-2 g/Tag über 3 Wochen oder Streptomycin 1 g/Tag für maximal 3 Wochen. Chronische Brucellosen sind jedoch mit Antibiotika kaum beeinflußbar (WHO, 1971).

Als Prophylaxe ist für stark exponierte Personen eine Impfung mit dem attenuierten B 19-Stamm gegen B.abortus möglich. Die Vakzination wird jedoch nur nach negativem Hauttest empfohlen, da es nach der Impfung häufig zu klinisch manifester Brucellose oder zu hyperergischen Reaktionen bei sensibilisierten Personen kommen kann (WHO, 1971).
Die beste Prophylaxe für den Menschen bleibt immer noch die Ausrottung der Brucellose bei den Tieren.

2.4. Brucella canis

2.4.1. Geschichte

In Beagle-Zwingern der USA lagen bis zum Jahre 1962 Abortraten und Sterilitäten bei Hündinnen beständig bei einem Wert um 2 %, stiegen aber in den 60-er Jahren auffallend stark an und wurden zum ökonomischen Diasaster privater und kommerzieller Beaglezüchter.
Zwischen 1966 und 1967 berichten 4 amerikanische Forschergruppen unabhängig voneinander, als Ursache für das seuchenhafte Verwerfen bei Beagle-Hunden ein kleines gramnegatives Bakterium isoliert zu haben (CARMICHAEL, 1966; HILL et al.,1967; MOORE und BENNETT, 1967; TAUL et al.,1967). Eine erste exakte wissenschaftliche Beschreibung einer möglicherweise neu entdeckten Krankheitsursache stammt von CARMICHAEL (1968).

Das entdeckte Bakterium ließ sich aufgrund des Verhaltens in der Kultur, Biochemie und der Serologie der Gattung Brucella zuordnen. CARMICHAEL und BRUNER (1968) sowie JONES et al.(1968) schlugen dafür den Namen Brucella canis vor.
Das Expertenkommittee der FAO / WHO hat in seinem 5.Report vom Jahre 1971 B.canis bereits als selbständige Brucella-Spezies anerkannt, während sich das Subkommittee für Brucella-Taxonomy nur für eine vorläufige Anerkennung entschieden hat (WUNDT und MORGAN, 1975).

Bisher konnte B.canis in folgenden Ländern isoliert werden: USA (CARMICHAEL, 1966), Bundesrepublik Deutschland (KRUEDENER, 1974), Japan (AZUMA und ISAYAMA,1973), CSSR (SEBEK et al.,1974), Madagaskar (VERGER et al.,1975), Mexiko (FLORES-CASTRO und SEGURA, 1976), Argentinien (VARELA-DIAZ und MYERS, 1979) und Brasilien (GODOY et al.,1977).

2.4.2. Ätiologie

CARMICHAEL und BRUNER (1968) beschreiben B.canis als winzige 0,5 x 0,5-2 μ stäbchenförmige Bakterien mit kokkoider Form in frischen Isolaten; sie liegen im Präparat einzeln, paarweise, in kleinen Gruppen und gelegentlich in kurzen Ketten vor.
B.canis sind unbewegliche gram-negative Bakterien, die keine Sporen bilden. Da sie den Gram-Farbstoff besser als andere Enterobacteriaceae aufnehmen, gleichen sie in ihren Eigenschaften den Brucellen. Einige Autoren beschreiben das Vorhandensein einer Mikrokapsel, dieser Befund wird jedoch von anderen Autoren bezweifelt (BUCHANAN und GIBBONS, 1974; VERGER et al.,1975).
B.canis soll im Elektronenmikroskop anderen Rauhformen (R-Formen) von Brucellen gleichen (DUBRAY, 1972; JONES et al.,1968; VERGER et.,1975).

Die Anzüchtung von B.canis-Kulturen gelingt nach CARMICHAEL und BRUNER (1968) am besten unter aeroben Verhältnissen bei 37°C. Auf Tryptose-Agar-Platten sind frühestens nach 36 Std. mit bloßem Auge Kolonien sichtbar, die nach 48 - 72 Std. ihre maximale Größe erreichen.
Primärkulturen sind grauweiß, feucht, glänzend, lichtdurchlässig und zeigen bei schräg durchfallendem Licht blaugrüne Opaleszenz. Die Kolonien sitzen dem Nährboden kuppelartig auf und lassen sich leicht von der Oberfläche lösen. Innerhalb einer Woche werden sie schleimig und lösen sich nur schwer ab.

Nach Angaben von CARMICHAEL sind die B.canis-Kolonien immer schleimig (mucoid). Für diesen Zusammenhang ist es wichtig hervorzuheben, daß B.canis nur als Rauh-(R-)Form wächst, im Acriflavintest nach BRAUN und BONESTELL (1947) somit immer positiv ist und darin innerhalb der Gattung Brucella allein B.ovis gleicht. Alle anderen bekannten

Brucella-Spezies wachsen in der Regel als S(smooth)-Formen, nur selten kommen hier R-Formen vor; genannt sei als bekannte Ausnahme von B.abortus der Stamm 45/20, der als R-Form keine in der Routine-Brucellose-Serologie störenden Antikörper induziert.

Endotoxine lassen sich bei B.canis nicht (HALL, 1971; JONES et al.,1968) oder nur in geringen Mengen nachweisen (MORISSET und SPINK, 1969).

Das biochemische Verhalten von B.canis wird relativ einheitlich beurteilt und macht eine Differenzierung gegenüber anderen Brucella-Spezies einfach mit Ausnahme von B.suis. B.canis unterscheidet sich aber von B.suis in zwei Punkten:
1. B.canis wird immer als R-Form, nie als S-Form isoliert;
2. Die Pathogenität für Haustiere ist abgesehen vom Hund sehr gering, ebenso die Virulenz gegenüber Meerschweinchen und Affen (Macaca arctoides) (CARMICHAEL und GEORGE,1976).

Biochemisch ist die starke und schnelle Urease-Reaktion hervorzuheben, die nach Angaben von ALTON et al.(1975) in weniger als 30 Minuten, nach KRUEDENER (1976) in nur wenigen Minuten abläuft.
Positiv sind folgende Reaktionen: Urease, Katalase, Oxydase, Nitrat wird zu Nitrit reduziert; Schwefelwasserstoffbildung erfolgt erst nach einigen Tagen. B.canis wächst ähnlich wie B.suis gut auf Nährböden mit Thionin. Negative Tests schließen ein: Keine Spaltung von Zuckern (Glucose und Ribose wird nur fermentativ verwertet),Citrat wird nicht verwertet und Indol nicht gebildet. Voges-Proskauer-Reaktion findet nicht statt und Gelatine wird nicht verflüssigt. Ferner wächst B.canis weder auf Nährböden mit basischem Fuchsin noch auf Mac-Conkey- und Gassner-Agar (CARMICHAEL und BRUNER, 1968).

Tab. 2: Übersicht über die wichtigsten Differenzierungsmerkmale der Spezies und Biotypen der Gattung Brucella nach BRINLEY MORGAN und Mc CULLOGH (1974) (zitiert nach ROLLE und MAYR, 1978)

Biotyp	CO_2-bedürftig	H_2S-Bildung	Wachstum mit Zusatz von Farbstoff* zum Nährboden			Agglutination in			Lysis durch Phage Tb, RTD**	Verwertung (oxydativ) von C- und N-Verbindungen										
			Basisch. 1:25000	Fuchsin / 1:25000	Thionin 1:50000	mono-spez. Sera A	mono-spez. Sera M	Anti-rough-Serum		L-Alanin	L-Asparagin	L-Glutaminsäure	L-Arabinose	D-Galaktose	D-Ribose	D-Glucose	L-Erythrit	D-Xylose	L-Arginin	L-Lysin
1. *B. melitensis*																				
1	–	–	+	–	+	–	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	–	–	–
2	–	–	+	–	+	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	–	–	–
3	–	–	+	–	+	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	–	–	–
2. *B. abortus*																				
1	d	+	+	–	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
2	d	+	–	–	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
3	d	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
4	d	+	+	–	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
5	–	–	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
6	–	–	+	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
7	–	d	+	–	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
8	+	–	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
9	–	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
3. *B. suis*																				
1	–	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
2	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
3	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+
4	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+
4. *B. neotomae*	–	+	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	+	+	d	+	+	+	–	–
5. *B. ovis*	+	–	+	+	+	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
6. *B. canis*	–	–	–	+	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+	+	d	–	+	+

* reg. Farbstoffe der National Aniline Division, Allied Chemical and Dye Co., New York d = variabel

Innerhalb der Gattung Brucella besteht eine Antigenverwandtschaft zwischen B.canis und B.ovis, die natürlicherweise beide als R-Formen vorkommen. Rauhformvarianten von B.abortus, B.melitensis und B.suis, die ebenfalls antigene Beziehungen zu B.canis aufweisen, sind äußerst selten (CARMICHAEL und BRUNER, 1968; DIAZ et al.,1968). Daher lassen sich B.canis-Infektionen in der routinemäßigen Brucellose-Diagnostik nicht nachweisen, da keine Agglutination mit monospezifischen Antiseren eintritt, die gegen S-Form-Spezies der Brucellagattung gerichtet sind.

Ferner sind Antigenbeziehungen zwischen B.canis und einigen heterologen Bakterienarten beschrieben, so z.B. mit Actinobacillus equuli (CARMICHAEL und BRUNER,1968), Bordetella bronchiseptica (PICKERILL, 1970) und Pasteurella multocida (DIAZ und BOSSERAY, 1973).

Weitere Eigenschaften, die besonders hervorgehoben werden können, sind: Als Wuchsstoff für B.canis wirkt Erythritol bei Hunden (LOWRIE und KENNEDY, 1972), und B.canis wird von Brucella-Phagen (Referenzstamm "tb") nicht lysiert (CORBEL und MORGAN, 1975; JONES et al.,1968).

2.4.3.Epizootiologie

Als natürliches Wirtsreservoir werden neben Beagles auch andere Hunderassen wie Foxhounds, Weimaraner, Pointer, Altenglische Schäferhunde sowie Greyhounds angesehen (CARMICHAEL und BRUNER, 1968).
Einen seuchenhaften Verlauf mit hoher Kontagiosität und hohen Abortraten kennt man bisher nur aus Beaglezwingern. Die Hauptübertragung in Beaglezuchten erfolgt durch direkte Kontakt- und Schmierinfektionen, in erster Linie mit Nachgeburtsresten, Allantoisflüssigkeit und

Vaginalausfluß (2 Wochen ante partum bis 9 Wochen post partum), in denen hohe Keimzahlen bis 10^6 pro ml festgestellt wurden. Weiterhin sind Übertragungen möglich mit Urin von Rüden, Ausscheidungen während der Läufigkeit, mit Kot sowie Speichel, Augen- und Nasensekreten. Infektionen über den Deckakt sind selten. Überlebende Welpen haben eine Bakteriämie; die Welpen können auch über die Milch der säugenden Hündin angesteckt werden. Schließlich können Vektoren, z.B. infizierte Geräte, bei der Übertragung eine Rolle spielen (CARMICHAEL und KENNEY, 1970; MOORE, 1969; UEDA et al.,1974; WEBER, 1976 a).

In den USA waren um 1968 bis zu 38 Bundesstaaten teilweise stark verseucht (CARMICHAEL und KENNEY, 1968). MOORE et al.(1968) fanden 71 % von 265 Hunden, MORISSET und SPINK (1969) sogar 86 % von 178 Beagles serologisch positiv. Diese hohen Infektionsraten bedeuteten den Ruin für private und kommerzielle Beaglezüchter. Wahrscheinlich über Zukauf von infizierten Zuchthunden aus den USA wurden Beagle-Bestände anderer Länder verseucht. In der Bundesrepublik untersuchte KRUEDENER(1976) 1188 Beagles, 213 (= 17,9 %) zeigten Titer über 1:100; WEBER (1976 b) testete 1190 Beagles in der BSLA und fand 10,3 % der Tiere mit Antikörpertitern, die höher als 1:50 lagen. SEBEK et al.(1976) berichten von B.canis-Infektionen in einem Beaglezwinger der CSSR. SYKORA et al.(1977) melden einen Rückgang des Vorkommens von 43 % im Jahre 1974 auf 8 % im Jahre 1976. Aus Japan reagierten nach Untersuchung von 179 Beagles 50 % aller Seren positiv (YAMAUCHI et al.,1974).

Bei streunenden Hunden konnten in den USA bei etwa 6-8% der untersuchten Tiere B.canis-Antikörper gefunden werden (BROWN et al.,1976 a; FREDRICKSON und BARTON, 1974; GALPHIN, 1977). Dagegen ermittelte LEWIS (1972) in Alabama einen hohen Wert von 77,4 % mit B.canis-Titern von 1:25 bei 650 getesteten Hunden.

In Japan konnte man erstmals B.canis auch kulturell bei 2 streunenden Hunden von 69 aus Tokyo nachweisen (UEDA et al.,1974). HAYASHI und ISAYAMA (1977) fanden in Hokkaido von 540 Hunden 3 % mit 1:160 Titern. Eine weite Verbreitung von B.canis wurde in Mexiko und Peru beschrieben. FLORES-CASTRO und SEGURA (1976) berichten von 28 % von 500 untersuchten Hunden aus Mexico-City, FLORES-CASTRO et al.(1977) von 11,8 % von 59 Hunden mit Antikörpertiter von 1:200. Die gleichen Titer fand ENGLEHARDT (1974) bei 19 % von 100 Hunden aus Perros und der Region von Chiclayo. In Brasilien testeten GODOY et al.(1977) 67 Hunde und konnten bei einer HÜndin mit 1:200 Titer in der Blutkultur B.canis isolieren. Serologisch konnten B.canis-Infektionen auch bei Hunden aus der Provinz Buenos Aires in Argentinien festgestellt werden, nähere Angaben dazu sind nicht bekannt (zitiert nach VARELA-DIAZ und MYERS, 1979). Der serologische Nachweis von B.canis soll auch in Tunesien gelungen sein (EL BAHRI et al.,1970; zitiert nach FLORES-CASTRO et al.,1977).

Auch bei Haushunden konnte man in einigen Fällen serologisch und kulturell B.canis-Infektionen diagnostizieren, so bei Deutschen Schäferhunden, Bastarden, einem Pudel und Dobermann (HENDERSON et al.,1974; RIECKE und RHOADES, 1975; RIFKIN et al.,1978; SWENSON et al.,1972). Fast alle stammen aus den USA; ein Fall ist aus Madagaskar bekannt (VERGER et al.,1975) und ein Fall aus Japan (UEDA et al.,1974). Seroepidemiologische Untersuchungen in den USA zeigten, daß etwa 1 % der amerikanischen Haushunde signifikante B.canis-Titer von 1:100 haben (CARMICHAEL und GEORGE, 1976). UEDA et al.(1974) ermittelten in Tokyo von 43 Klinikhunden 2 positive Reagenten mit 1:400.
Aus der Bundesrepublik liegt bisher eine Arbeit über serologische Untersuchungen zur Verbreitung von B.canis--Infektionen bei Haushunden vor (WEBER und SCHLIESSER, 1978).

Andere Tierarten wurden ebenfalls auf B.canis-Antikörper untersucht. HOFF et al.(1974) fanden bei 770 Carnivoren und Opossums 5 serologisch positive Reagenten. Klauentiere scheinen nicht empfänglich zu sein. Experimentelle Untersuchungen zeigten, daß Rinder, Schafe und Schweine einer B.canis-Infektion widerstehen (DEYOE,1970; PICKERILL und CARMICHAEL, 1972). Dagegen sind Mäuse und Meerschweinchen empfänglich. Bei Hasen kommt es gelegentlich nach Infektion zur Abszessbildung in der Bauchhöhle (CARMICHAEL und BRUNER, 1968). Bei Affen (Macaca mulatta und -arctoides) treten Brucellose-typische Granulome in Milz, Leber und Lymphknoten auf (PERCY et al.,1972).

Bei Menschen wurden von 1967 - 1976 in der Literatur 17 Fälle von Canis-Brucellose in den USA beschrieben: 6 Laborinfektionen (MORISSET und SPINK, 1969), 7 Fälle nach Kontakt mit infizierten Haushunden sowie 4 Fälle unbekannter Herkunft. In allen 17 Fällen erfolgte die definitive Diagnose durch Kultivierung des Erregers (zit. nach VARELA-DIAZ und MYERS, 1979).
SWENSON et al.(1972) dokumentieren den ersten Fall einer menschlichen B.canis-Erkrankung bei einer 23-jährigen Frau, die sich von ihrem Haushund angesteckt hatte. Obwohl der Hund von guter Gesundheit zu sein schien,ließ sich serologisch und kulturell bei beiden B.canis nachweisen. Über weitere Studien von menschlichen B.canis-Infektionen durch infizierte Haushunde berichten BLANKENSHIP und SANFORD (1975) sowie MUNFORD et al.(1975). RIFKIN et al.(1978) beschrieben bei einer 55-Jährigen Frau, die serologisch negativ war, eine B.canis-Bakteriämie.

Nach Bekanntwerden des Zoonosecharakters von B.canis wurden in vielen Ländern seroepidemiologische Untersuchungen auf B.canis-Antikörper auch bei Menschen angestrengt. In der USA-Bevölkerung wird eine Verbreitung von B.canis um 0,5 - 1 % angenommen (CARMICHAEL und GEORGE, 1976). LEWIS und ANDERSON (1973) fanden bei

1208 Rekruten 5 Männer (= 0,41 %) mit positiven Titern. HOFF und SCHNEIDER (1975) untersuchten 513 Personen aus Florida und halten 1 Person mit einem Antikörpertiter von 1:400 für positiv. Dagegen beschreiben MONROE et al. (1975) hohe Infektionsraten bei Neugeborenen (5,7 %) aus Oklahoma, bei Personen mit Kontakt zu Hunden (67,8 %) und bei Veterinären (72,6 %); in dieser Studie wurden Titer ab 1:12 in der Mikrotitertechnik als positiv angesehen. In Argentinien ermittelten VARELA-DIAZ und MYERS (1979) bei 1952 Menschen aus den Provinzen von Corrientes und Neuquen 1,2 % positive Reagenten. BARG et al.(1977) untersuchten 2020 Humanseren von Blutspendern aus Minas-Gerais in Brasilien und fanden 0,81 % B.canis-Titer von 1:100. Einen hohen Wert von 13,3 % mit 1:200 von 203 Menschen aus Mexico-City geben FLORES-CASTRO und SEGURA (1976) an. In Spanien untersuchten SORIANO et al. (1978) 500 Personen aus Madrid; bei Patienten mit Fieber unklarer Ursache fanden sie 2 %, bei Maltafieberpatienten 8,6 % und bei Personen mit Kontakt zu Hunden 0 % mit positiven B.canis-Titern von 1:160.
Aus der Bundesrepublik Deutschland liegt bisher eine Untersuchung bei Menschen auf Antikörper gegen B.canis vor (WEBER und BRUNNER, 1977).

2.4.4. Pathogenese

Beim erwachsenen Hund läuft eine B.canis-Infektion in bestimmter Reihenfolge ab (CARMICHAEL und KENNEY, 1970): Eintrittspforten für den Erreger sind in der Regel die Schleimhäute von Pharynx, Konjunktiva oder Genitaltrakt. Die Brucellen werden zunächst von Leukozyten phagozytiert und gelangen in die regionären Lymphknoten, wo eine bakterielle Vermehrung angestrebt wird. Bei oraler oder konjunktivaler Aufnahme sind die retropharyngealen-, bei genitaler Aufnahme die inguinalen- oder die Darmbeinlymph-

knoten betroffen. 1 bis 3 Wochen nach der Infektion findet eine Bakteriämie statt, die lange andauert, in der Regel 6 bis 18 Monate. Über die Bakteriämie gelangen die Brucellen in anderes Gewebe, wo sie sich vermehren. Bevorzugt sind die Zellen des Retikulo-Endothelialen--Systems (RES) von Milz, Lymphknoten und Leber. Es kommt zu Hyperplasien und zu Granulombildungen. Erst in zweiter Linie ist der Genitaltrakt betroffen: Bei der trächtigen HÜndin vorwiegend die Plazenta, beim RÜden der Nebenhoden und die Prostata. Als Immunantwort entstehen neben den humoralen Antikörpern hauptsächlich eine zelluläre Immunität, da Brucellen eine Neigung zum RES haben und dort intrazellulär vorkommen. Als immunpathologische Läsionen treten auf Arteritis, Phlebitis und Splenitis.
Die Erregerausscheidung geschieht beim RÜden über Urin und Samen, bei der HÜndin vorwiegend über den Vaginalausfluß nach dem Abort und über die abortierten Föten. Die B.canis-Infektion soll beim Hund zur Immunität führen.

2.4.5. Klinisches Bild beim Hund

Die meisten B.canis-Infektionen beim Hund verlaufen subklinisch (CARMICHAEL und KENNEY, 1970). Die infizierten Tiere haben kein Fieber, was auf das Fehlen von Endotoxin in der Zellwand von B.canis zurückgeführt wird.
Bei Tieren, die klinisch erkranken, beschreiben MORISSET und SPINK (1969) aufgrund ihrer Erfahrungen in verseuchten Beaglezwingern folgende Symptome als typisch:

RÜde	beide	HÜndin
Epididymitis	kein Fieber	Abort
Prostatitis	vergrößerte Milz	Unfruchtbarkeit
Hodenatrophie	vergrößerte Lymph-	Vaginalausfluß
Impotenz	knoten	

Dagegen weist nach CARMICHAEL und KENNEY (1970) bei weiblichen Tieren allein der seuchenhafte Abort um den 50. Tag der Trächtigkeit auf eine B.canis-Infektion. Das klinische Bild von B.canis bei Rüden ähnelt in vielen Beziehungen dem klinischen Bild von B.ovis bei Schafböcken. Rüden zeigen als auffallende Symptome uni- oder bilaterale Nebenhodenentzündungen und -Vergrößerungen, Hodenatrophie, eine Schwellung des Skrotums und Skrotalekzeme. Daneben wird eine erhebliche Spermienbeschädigung beobachtet (GEORGE und CARMICHAEL, 1974).
Infizierte Welpen, die nicht schon tot geboren wurden, sterben innerhalb 1 - 2 Tagen post partum. Solche Welpen sollen eine generalisierte Lymphadenitis zeigen. In derartigen Fällen ist die Plazenta nekotisch, der Fluor geruchlos. Die Letalität für erwachsene Hunde ist sehr gering.

Bei Haushunden sind vereinzelt weitere Krankheitsbilder beschrieben: HENDERSON et al.(1974) berichten von Spondylitiden bei Schäferhunden. Auftreten soll Apathie und vermehrter Durst (UEDA et al.,1974) sowie Augenentzündung (RIECKE und RHOADES, 1975). Ferner epileptische Anfälle, wobei B.canis aus der Cerebrospinalflüssigkeit angezüchtet wurde (HARRIS et al.,1974). SCHOEB und MORTON (1978) beobachteten bei einem Irish Setter ulcerierende Fisteln am Skrotum und konnten B.canis isolieren.

Differentialdiagnostisch kommen wegen den Lymphknotenschwellungen Toxoplasmose und Leukose in Frage, bei den infektiösen Aborten sind Herpesvirus canis, andere Brucella-Spezies, E.coli, ß-hämolysierende Streptokokken sowie Staphylococcus aureus abzugrenzen.

2.4.6. Klinisches Bild beim Menschen

Bisher sind nur wenige serologisch und kulturell gesicherte B.canis-Infektionen beim Menschen bekannt. Derartige Infektionen scheinen im Vergleich zu Infektionen mit B.suis, B.melitensis und B.abortus relativ gutartig zu verlaufen. Komplikationen wie Arthritiden, Spondylitiden, Endocarditiden und Meningitiden wurden bis jetzt bei B.canis nicht beobachtet (RIFKIN et al.,1978).

Nach MUNFORD et al.(1975) stehen Fieber, Schweißausbrüche, Schwäche sowie Gewichtsverlust im Vordergrund der klinisch manifesten Infektion. Ferner treten Lymphadenopathien und Splenomegalien auf. Unerkannt und unbehandelt kann sich die Krankheit über Monate hinziehen.

Nachstehend ist ein Vergleich von klinischen Symptomen bei B.canis-Infektionen gegenüber Infektionen mit anderen Brucella-Spezies angeführt (RIFKIN et al.,1978):

klinische Symptome	B.canis (13 Fälle) %	andere Brucella-Spezies (1288 Fälle) %
Fieber	84	89
Kopfschmerzen	62	51
Schwäche	54	64
Schüttelfrost	46	69
Übelkeit	46	64
Körperschmerzen	46	61
Schwitzen	31	61
Gewichtsverlust	23	41

2.4.7. Diagnose

Beim direkten Erregernachweis im Mikroskop ist B.canis wie andere Brucella-Spezies gram-negativ. Färbungen nach STAMP und KÖSTER sind positiv, letztere sind z.B. nützlich für Abklatschpräparate von der Haut bei abortierten Föten (KRUEDENER, 1974).

Beim kulturellen Erregernachweis läßt sich B.canis auf geeigneten Nährmedien wie Tryptose (Albimi)-, Tryptose--Soja-, Blut-Agarplatten sowie Tryptose-Bouillon, Brain--Heart-Infusion anzüchten (CARMICHAEL und BRUNER, 1968; MOORE und BENNETT, 1967).

CARMICHAEL und GEORGE (1976) geben folgende Charakteristika zur Identifizierung von B.canis-Infektionen an:

1. Isolierung von Hunden mit Fortpflanzungsstörungen oder von Menschen mit unklaren Symptomen (Übelkeit, Lymphadenopathien);
2. Langsames aerobes Wachstum auf Tryptose-Agar;
3. Wachstum in der Bouillon klebrig, auf Agar schleimig;
4. Starke Urease-Bildung, H_2S-negativ, Oxidase schwach pos.;
5. Keine Agglutination von monospezifischen Brucella--A / M-Seren;
6. Keine Lysis durch den Brucella-Phagen "tb";
7. Farbreaktion ähnlich wie B.suis (basisches Fuchsin negativ / Thionin positiv;
8. Führt zu Aborten bei trächtigen Hündinnen, Nebenhodenentzündungen beim Rüden und zu Lymphknotenvergrößerungen; kein Fieber;
9. Keine Endotoxinbildung.

Da B.canis-Infektionen häufig klinisch inapparent verlaufen, ist die Serologie das wichtigste Hilfsmittel zum Erkennen der Infektion. Mit dem in der Brucellose-Serologie üblicherweise verwendeten B.abortus-Antigen sind B.canis-Antikörper allerdings nicht nachweisbar, dafür bedarf es eines spezifischen B.canis-Antigens (ALTON et

al.,1975; CARMICHAEL und BRUNER, 1968; MOORE,1969;MORGAN und CORBEL, 1976).
Serologische Testmethoden für B.abortus, B.melitensis und B.suis sind international standardisiert.Für B.canis fehlt bisher eine solche Regelung, so daß eine Vielzahl verschiedener Methoden für den Antikörpernachweis von B.canis herangezogen worden sind.

Am häufigsten wird die Serumlangsamagglutination (BSLA) benützt. Eine Reihe von Autoren führten den Test bei einer Temperatur von 50°(±2) C durch (CARMICHAEL und KENNEY,1968; GEORGE und CARMICHAEL,1974; MOORE und GUPTA, 1970; MORISSET und SPINK,1969; PICKERILL,1970; SORIANO et al.,1978), während andere die Agglutination bei 37°C vornahmen (DEYOE,1970; KRUEDENER,1976; LEWIS,1972; MOORE,1969; WEBER,1976 a und b).
Nach WEBER (1976 a) werden mit der BSLA bei 37°C eher die IgM-Antikörper (= 19S-Makroglobuline) erfaßt, während die BSLA bei 50°C eher die hitzestabilen kleineren IgG-Antikörper (= Mikroglobuline vom 7S-Typ) nachweist. IgM-Antikörper treten bereits ab dem 7.Tag nach der Infektion auf, IgG-Antikörper dagegen etwa 2 Wochen später.
B.canis-Titer von 1:100 und höher werden als positive Reaktion bewertet (CARMICHAEL und GEORGE,1976; KRUEDENER, 1976; WOOLEY et al.,1978). Einige Autoren halten erst Titer $\geq$ 1:200 für positiv (FLORES-CASTRO und SEGURA, 1976; ENGLEHARDT, 1974) und MOORE (1969) sieht sogar nur Titer größer als 1:400 in Verbindung mit dem kulturellen Nachweis als Absicherung von B.canis-Infektionen an.
B.canis-Titer von 1:50 bis 1:200 können eventuell unspezifisch sein, obwohl im allgemeinen heute Titer ab 1:100 bereits als positiv gelten. Deshalb empfehlen einige Autoren zur Abklärung eine zweite serologische Methode. Für die BSLA sind klare Seren zum Test nötig, was bei Hundeseren schwierig ist, da sehr leicht Hämolyse auftritt (CARMICHAEL und GEORGE, 1976; WEBER, 1976 a).

Der Objektträgertest (Slide-Test), der von HOUSE und BADAKSH (1974) sowie von GEORGE und CARMICHAEL (1974) entwickelt wurde, ist ein Schnelltest und als Feldmethode geeignet. Er ist der einzige kommerziell vertriebene B.canis-Test ("Test-Kit-Pitman Moore", USA) und arbeitet auf der Basis von B.ovis-Antigen. Bei positiven B.canis-Seren tritt aufgrund der Antigenverwandtschaft eine deutliche Agglutination innerhalb 5 Minuten ein. Dieser Test soll keine falschnegativen, dafür aber falschpositive Ergebnisse liefern; von den ermittelten Reagenten sind nur 68 % tatsächlich B.canis-positiv (BROWN et al., 1976 a; FLORES-CASTRO et al., 1977).

Im Merkaptoäthanol-Test (MET) werden die Seren mit Merkaptoäthanol behandelt, das unspezifische Agglutinine (= Makroglobuline von 14S- bis 19S-Typen) eliminieren soll. Merkaptoäthanol spaltet Makroglobuline, also auch die IgM-Antikörper, so daß keine frischen Infektionen mit dem MET erfaßt werden können. Mehr resistent sind die kleineren IgG-Antikörper. In der Diagnostik der Brucellose soll deren Nachweis sehr spezifisch für eine Infektion mit Brucellen sein (RICE, 1968).
Die Erfahrungen bei B.canis-Untersuchungen mit dem MET sind nicht immer positiv. Über wenig brauchbare Ergebnisse berichten HOOSIER et al.(1970) sowie WEBER (1976a). Gute Erfahrungen machten dagegen DEYOE (1970),PICKERILL, 1970), HOFF und NICHOLS (1974) sowie FREDRICKSON und BARTON (1974). ALTON et al.(1975) empfehlen diesen Test, weil er unspezifische Reaktionen ausscheiden soll. B.canis-Titer ab 1:200 werden als positiv angesehen.

Alle folgenden Testmethoden wurden bisher nicht so häufig verwendet:
Für den Agar-Gel-Präzipitations-Test (AGP) gebrauchten MYERS et al.(1974) lösliche B.ovis-Antigene zum Nachweis von B.canis-Infektionen. WEBER und KRAUSS (1975) erzielten mit löslichen B.canis-Extrakten gute Ergebnisse. Dagegen

unbefriedigend waren B.canis-Kochextrakte. ALTON et al. (1975) empfehlen den AGP nach der Methode von MYERS und SINIUK (1970).
In der Komplementbindungsreaktion erwies sich die Herstellung eines brauchbaren B.canis-Antigens als große Schwierigkeit. PICKERILL (1970) erzielte falschpositive Ergebnisse mit löslichen Antigenextrakten. DEYOE (1970) verwendete mit Erfolg B.canis-Kochantigene und WEBER und KRAUSS (1975) stellten mittels Natriumdesoxycholat und Frigen 113^{K} ein brauchbares Antigen her.Titer ab 1:10 sind positiv. ALTON et al.(1975) halten die KBR für brauchbar für den Nachweis von B.canis-Antikörpern , wenn HILL's Technik (1963) zur Anwendung kommt.
Die Immunofluoreszenz wurde als direkte (WEBER und BALKE, 1978) und empfehlenswerter als indirekte Methode (WEBER und HUSSEIN, 1976) verwendet.
Mit Hilfe des Coombs-Tests konnten UEDA et al.(1974) bei 4 von 10 Hunden inkomplette Antikörper nachweisen.
Dagegen ist die indirekte Hämagglutinationsreaktion nach PICKERILL (1970) zum Nachweis von B.canis-Infektionen nicht brauchbar.

2.4.8. Therapie- Bekämpfung- Prophylaxe

In vitro erwies sich B.canis als empfindlich gegenüber Tetracyclinen, Ampicillin und Streptomycin.
Eine Antibiotikatherapie in Beaglezwingern mit diesen Antibiotika war zwecklos, da die intrazellulär vorkommenden Brucellen schwer zugänglich sind und es bald nach Absetzen der Antibiotika wieder zu einer Bakteriämie kam (LEWIS et al.,1973; MOORE,1969). Nach Ansicht von HAHN (1979) soll beim Einzeltier eine Therapie möglich sein mit einer Kombination von Tetracyclinen-Neomycinsulfat--Streptomycinsulfat-Prednisolonacetat über 3 Tage gegeben.

Prophylaktisch konnte auch kein zufriedenstellender Impfstoff entwickelt werden. Nur schwache Immunität induzierten eine Smooth-mucoid-Variante von B.canis mit geringer Virulenz sowie die Rauhform des B.abortus-Stammes 45/20 als Totvakzine (CARMICHAEL und KENNEY, 1970). Eine wirksame Sanierung der Beaglezuchten war nur möglich mit serologischen Reihenuntersuchungen, Isolierung der infizierten Hunde, Quarantäne bei Neuzukauf und guter Desinfektion. Für diese eignet sich nach WEBER (1976 a) 2 % Lysovet, 3 % Formalin oder 0,5 - 2 % Natronlauge.

Beim Menschen ist die richtige Kombination der Antibiotika für die Therapie entscheidend. Nach MUNFORD et al. (1975) helfen Ampicilline allein nicht; als brauchbar erwies sich eine Kombination von Tetracyclinen und Amphotericin B (= Mysteclin F).
RIFKIN et al.(1978) verwendeten Ampicillin und Streptomycin oder Ampicillin und Tetracycline kombiniert und berichten über gute Erfolge mit dieser Therapie.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Herkunft der Seren

3.1.1.1. Hundeseren

Im Zeitraum von November 1978 bis Juni 1979 wurden insgesamt 830 Seren von Hunden verschiedener Altersklassen und Rassen gesammelt. Die einzelnen Seren waren mit Kennummern versehen, nähere Angaben zu den Hunden wurden nur nach positivem oder unklaren serologischen Befund erfragt. Die einzelnen Proben wurden wie folgt verarbeitet:
Etwa 5 ml Venenblut wurden jeweils in Serummonovetten bzw. in Glasröhrchen aufgenommen und nach Gerinnung 30 Minuten bei 2000 g zentrifugiert. Bis zum Abholen bzw. Versand blieben die Seren bei 4°C, in Ulm wurden die gesammelten Seren ohne Zusatz von Konservierungsstoffen bei -20°C bis zur serologischen Untersuchung eingefroren.

Die Herkunft der 830 Hundeseren verteilt sich auf:

a) 656 Haushunde, die in tierärztlicher Behandlung waren (182 aus München, 95 Ulm, 50 Stuttgart, 55 Lörrach, 78 aus Freiburg, 100 Karlsruhe und 96 aus Mannheim);
b) 116 Seren aus dem Institut für Medizin. Mikrobiologie der Tierärztlichen Fakultät München;
c) 8 Tierheimhunde (weitere Blutproben verhinderten Tierschützer, die meine "Tierversuche" ablehnten);
d) 50 Seren von gesunden Beagles der Ulmer Universität.

Mein Dank für das verständnisvolle Entgegenkommen bei der Beschaffung der Hundeseren gilt folgenden Kollegen:

Dr.Rudolph, Dr.Dilger, Dr.Schäuffelen, Dr.Schnappauf (Ulm); Dr.Gehring (Stuttgart); Drs.Kasa (Lörrach); Drs.Niemand (Mannheim); Drs.Schmidtke (Karlsruhe). Der Tierklinik der Universität München; dem Tierhygienischen Institut Freiburg; dem Institut für Med. Mikrobiologie der Tierärztlichen Fakultät München.

3.1.1.2. Menschliche Seren

Alle Humanseren stammen aus der Inneren Medizin und der Chiurgie der Universitätskliniken Ulm. Bei den Spendern handelt es sich um Patienten aller Altersstufen aus Ulm und der näheren Umgebung; Kennummern ermöglichten eine Rückfrage. Insgesamt wurden 1200 Humanseren untersucht.

700 Seren stammen von Patienten mit fieberhaften Erkrankungen unklarer Genese. Diese Seren waren im Laufe eines Jahres (von Oktober 1978 bis Oktober 1979) in das serologische Labor der Sektion für Infektionskrankheiten eingeschickt worden mit Verdacht auf Salmonellosen, Shigellosen, Brucellosen, Toxoplasmosen, Ornithosen, Q-Fieber, Mumps und Influenza.
Für meine Tests waren die ersten 400 Seren nach Lagerung bei -20° C, die restlichen frisch zur Untersuchung gekommen.

Weitere 500 Seren sind aus dem Labor für Klinische Chemie; diese Seren wurden im Juni 1979 ohne vorheriges Einfrieren auf Brucella canis-Antikörper getestet.

Für die Überlassung der Seren danke ich
dem Leiter der Sektion für Infektionskrankheiten,
Herrn Prof. Dr. E. Vanek,
sowie dem Leiter des Labors für Klinische Chemie,
Herrn Prof. Dr. K. Rommel.

3.1.2. Antigene und Antigenherstellung

3.1.2.1. Brucella canis

Im Handel ist kein Antigen zur Bestimmung von Antikörpertitern gegen B.canis erhältlich. Weiterhin fehlen standardisierte Richtlinien zur Herstellung, so daß ein eigenes Antigen hergestellt werden mußte.

Der B.canis-Referenzstamm RM 6-66 * ließ sich gut auf Kochblut-Agarplatten und in Tryptose-Soja-Bouillon anzüchten. Deutliches Wachstum war jedoch erst nach 2 Tagen aerober Bebrütung bei 37°C sichtbar und zwar auf den Kochblutplatten als kleine, glasige, grauweiße Kolonien. Die Bakterien der gewachsenen Kolonien waren winzige gram-negative Stäbchen. Der Urease-Test war innerhalb von 5 Minuten positiv rosa gefärbt. Eine Agglutination mit B.abortus- und B.melitensis-Immunseren verlief negativ. Der Acriflavin-Test zeigte ein positives Ergebnis. In der bunten Reihe traten folgende Reaktionen auf: Kligler Ø, Mannit Ø, Ornithin Ø, Ammoncitrat Ø, Urease +, Indol Ø.

Die Herstellung des Gebrauchsantigens erfolgte im wesentlichen nach 2 Methoden.
Einmal modifiziert nach dem von CARMICHAEL und BRUNER (1968) sowie von MOORE (1969) und WEBER (1976 a) beschriebenen Verfahren: Dazu wurden Petrischalen mit Albimiagar mit etwa 1 ml B.canis-angereicherter Tryptose-Soja-Bouillon beschickt und 48 Std. bei 37°C aerob bebrütet. In Reinkultur gewachsene B.canis-Kulturen wurden mit

---

* Herrn Dr. W.J.B. Morgan, Central Veterinary Laboratory, New Hall, Weybridge, Surrey, England, danke ich für die Überlassung des Stammes.

sterilen Glasspateln geerntet und in 3 - 5 ml Phosphatpuffer-Kochsalzlösung (PBS; PH 7,1; 0,01 mol) aufgeschwemmt. Mit dieser Suspension erfolgte die Beimpfung von Falcon-Gewebekulturflaschen (75 cm^2) mit Albimiagar sowie anschließender aerober Bebrütung - mit Nährboden nach oben - bei 37°C über 48 Std..
Nach diesem Anreicherungsverfahren wurden die Gesamtabschwemmungen durch 4 - 6 fache Lagen steriler Gaze gefiltert, zentrifugiert (30 Minuten bei 10 000 g) und 2 mal mit PBS (PH 7,1) gewaschen. Wichig war eine gute Homogenisierung der oft verklebten Bakterienmasse. Das letzte Sediment wurde in PBS (PH 7,1) mit 0,5 % Phenolzusatz aufgenommen und 1 Std. bei 56°C im Wasserbad inaktiviert. Diese Antigenstammlösung (I) wurde im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt.

ALTON et al.(1975) beschreiben eine weitere Methode zur Herstellung eines Antigenstammes. Bei gleichem Arbeitsgang sollen hier nur die Abweichungen hervorgehoben werden. Die Bebrütung erfolgte nur 24 Std., worauf die Kulturen mit physiologischer 0,9 %-Kochsalzlösung geerntet werden. Nach Waschen mit Soerensen-Puffer (PH 7,0; 0,05 mol) erfolgte die Inaktivierung über 1 Std. bei 70°C. Das Antigen wird zur Lagerung in Soerensen-Puffer(PH 7,0) suspendiert, dem 0,5 % Formalin zugesetzt wird (Antigenstammlösung II).

Die hergestellten Antigenstämme werden kurz vor Verwendung soweit verdünnt, daß die Gebrauchsantigene eine optische Dichte von 22 % Lichtdurchlässigkeit (Transmission) bei 420 nm haben (KRUEDENER, 1976; MOORE,1969; WEBER 1976 a). Die Bestimmung der optischen Dichte erfolgte mit einem Zeiss-Spectralphotometer PMQ 3 (Quarzküvetten 1 cm; Stufe S; Falschlichtschutzfilter 380-500nm; Filterrevolver 420 nm; Spaltbreite 0,01). Zur Verdünnung wurde 0,5 % Phenol-Kochsalzlösung (PH 6,1) bzw. Soerensen-Puffer mit 0,06 % Formalinzusatz verwendet.

Zur Prüfung der Antigene auf Reinheit und Spezifität sollen nach HALLMANN und BURKHARDT (1974) folgende Punkte Beachtung finden:

1. Gute Homogenisierung der Antigen-Stammlösungen;
2. Vermeidung von Spontan- und Eigenagglutinationen, die bei Rauhformen in physiologischer Kochsalzlösung gern auftreten. In den vorliegenden Versuchen konnte das Problem spontan auftretender Agglutinationen durch gute Suspension der Antigenstammlösung (rühren bei 900 U/min. über 5 Std.) und der Verwendung von Soerensen-Puffer anstelle der Kochsalzlösung beseitigt werden.
3. Das wichtigste Kriterium ist der Nachweis der Antigenspezifität. Die selbst hergestellten B.canis-Antigene zeigten keine Agglutinationen mit B.abortus- und B.melitensis-Seren ("A"- und "M"-Seren), dagegen eine Agglutination mit B.canis-Seren ("R"-Seren). Der Spezifitätsnachweis wurde mit Hilfe positiver, getesteter B.canis--Referenzseren geführt, die mit meinen Antigenen übereinstimmende Antikörpertiter zeigten. Ein positives B.canis--Referenzserum aus Gießen* wies einen Titer von 1:160 +++ auf. Ein weiteres B.canis-Referenzserum** (ein SPF-Beagleserum mit einem B.canis-Antikörpertiter von etwa 1:400+++, das CARMICHAEL in lyophilisierter Form an interessierte Laboratorien verschickt und als vorläufiges "B.canis--Standardserum" angesehen werden kann) agglutinierte bis zu einer Grenzverdünnung von 1:440 +++.

Schließlich wurden meine B.canis-Antigenstammlösungen von Dr.CARMICHAEL, James A. Baker Institute for Animal Health geprüft. Die dort erzielten Ergebnisse waren mit den von uns erzielten Werten vergleichbar.

Für die Überlassung der B.canis-Referenzseren danke ich
* Herrn Prof.Dr.Th.Schliesser, Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, Universität Gießen sowie
** Herrn Dr.L.E.Carmichael, James A. Baker Institute for Animal Health, Cornell University, Ithaca, N.Y.14850, USA.

Im Vergleich der beiden hergestellten Antigene bei Verwendung positiver Kontrollseren zeigte sich, daß mit beiden Antigenen die gleichen Antikörpertiter erzielt wurden. Nur Stammantigen I war weniger haltbar, innerhalb von 3 Monaten wurde ein allmählicher Titerabfall beobachtet. Beide Antigene waren gut geeignet zum Nachweis von B.canis--Antikörpern. Nach unseren Erfahrungen wies das nach der Methode von ALTON et al.(1975) hergestellte Antigen (Stammantigen II) Vorteile bei der Ablesung auf.

3.1.2.2. Brucella abortus

Für die vorliegende Untersuchung wurde das kommerziell erhältliche standardisierte "Brucella-Trockenantigen"des Bundesgesundheitsamtes, Robert von Ostertag-Institut in Berlin, verwendet.Das lyophilisierte Trockenantigen wird in 500 ml 0,5 % Phenol- 0,9 % Kochsalzlösung aufgeschwemmt, als Stammantigen im Kühlschrank aufbewahrt und in den angegebenen Verdünnungen gebraucht (BSLA 1:10;KBR 1:100).

3.1.3. Antikörpernachweise

3.1.3.1. Serumlangsamagglutination (BSLA)

In der serologischen Brucellose-Diagnostik ist dieser Test bisher die Hauptmethode gewesen. Er dient zum Nachweis aller agglutinierenden Antikörper, wobei die Ig M--Typen im Vordergrund stehen (ALTON et al.,1975).
Hier wurde die "Europäische Methode" eingesetzt, d.h. 0,5 ml jeder Serumverdünnung werden zusammen mit je 0,5ml Gebrauchsantigen gemischt und bei 37° C 24 Std.lang inkubiert.

Die Verdünnung des B.canis-Gebrauchsantigens zum Nachweis der B.canis-Antikörper wurde zur Untersuchung von Humanseren mit Phenol-Kochsalzlösung, für Hundeseren mit Soerensen-Puffer vorgenommen, um Spontanagglutinationen zu vermeiden.
Alle Seren wurden mit Phenol-Kochsalzlösung in folgenden Verdünnungsstufen angesetzt:

Hundeseren: 1:25, 1:50, 1:100, 1:200;
Humanseren: 1:50, 1:100.

Bei jedem Ansatz wurden negative und positive Kontrollseren mitgeführt. Als positive Kontrolle diente das B.canis-Standardserum in einer Verdünnung von 1:100.
Das Ablesen erfolgte nach 24 Std. bzw. nach 48 Std. bei seitlicher Lichtquelle und dunklem Hintergrund.Die Bewertung einer vollständig positiven Reaktion (+++) beruht auf 3 Kriterien: Wasserklarer Überstand; wolkenartiges Sediment; bei vorsichtigem Schütteln sind deutliche Agglutinate sichtbar, die Agglutinate sind schleimig bis grobkörnig.
Als positive B.canis-Titer wurden Hunde- und Humanseren mit ≥ 1:100 angesehen (CARMICHAEL und GEORGE,1976; MUNFORD et al.,1975; RIFKIN et al.,1978).
Alle Seren, die in der BSLA mit B.canis-Antigen in einer Verdünnung von 1:50 und höher reagierten, wurden zusätzlich im Merkaptoäthanol-Test getestet.

Für den B.abortus-Antikörpernachweis wurden folgende Verdünnungsstufen mit Phenol-Kochsalzlösung angesetzt:

Hundeseren: 1:25, 1:50;
Humanseren: 1:50, 1:100.

Als Gebrauchsantigen wurde das B.abortus-Stammantigen mit Phenol-Kochsalzlösung 1:10 verdünnt. Die Ablesung erfolgte nach 20 - 24 Std. Inkubation bei 37°C. Die Bewertung richtete sich nach ALTON et al.(1975), die vollständig positive Reaktion wird mit ++++ angegeben. Titer ≥1:40 sind bei Hundeseren positiv (ROLLE und MAYR, 1978), Humanseren erst ab 1:160 (VANEK, 1976).

3.1.3.2. Merkaptoäthanol-Test (MET)

Durch Zusatz von Merkaptoäthanol sollen unspezifische Agglutinationen ausgeschlossen werden. Der Nachweis der gegen Merkaptoäthanol resistenten agglutinierenden IgG--Antikörper wird in der Brucellose-Diagnostik als mehr spezifisch für eine Infektion mit Brucellen angesehen (ALTON et al.,1975; RICE,1978). Deshalb wurde dieser Test als weitere Untersuchungsmethode eingesetzt, getestet wurden nur die Seren, die bereits in der BSLA einen B.canis-Antikörpertiter von 1:50 und höher aufwiesen.

Nach ALTON et al.(1975) werden im MET pro Serum die Verdünnungsstufen 1:50, 1:100 und 1:200 als Dezimalmethode angesetzt. Das bedeutet, daß fixe Serummengen pro Teströhrchen gebraucht werden (0,040 ml für 1:50, 0,020 für 1:100 und 0,010 ml für 1:200) und pro Röhrchen jeweils 1 ml Testflüssigkeit sowie 1 ml B.canis-Gebrauchsantigen dazugegeben wird. Die Testflüssigkeit besteht aus 0,1 mol 2-Merkaptoäthanol in Kochsalzlösung mit 0,06 % Formalinzusatz. Das Gebrauchsantigen wurde mit Formalin-Kochsalzlösung aus dem B.canis-Stamm auf die angegebene Dichte eingestellt. Anstelle der für den Test beschriebenen 3,5 % Kochsalzlösung wurde physiologische (0,9 %) verwendet, um spontane Agglutinationen zu vermeiden.

Die Bewertung des Merkaptoäthanol-Tests erfolgt wie bei der BSLA, nur mit dem Unterschied, daß die Ansätze nicht geschüttelt werden und allein beurteilt wird, wieweit der Überstand der einzelnen Röhrchen mit dem Serum-Antigengemisch nach 24 bzw. 48 Std. Inkubation bei 37°C klar geworden ist. Als Reaktionen sind möglich negativ, unvollständig und schließlich vollständig (wasser)klar.
Als positiver Ausfall des Tests gelten nur Ansätze, in denen die Überstände bis zu einer Serumverdünnung von 1:200 vollständig klar sind.

3.1.3.3. Komplementbindungsreaktion (KBR)

Mit Hilfe der KBR wurden nur noch Seren getestet, die bereits mit B.abortus-Antigen in der BSLA reagierten. Der Nachweis von komplementbindenden Antikörpern gilt beim Tier als Beweis für klinische und subklinische Infektionen mit Brucellen (ALTON et al.,1975). Die Reaktion soll auch eine höhere Spezifität als die BSLA aufweisen und dient daher als ergänzende Untersuchungsmethode bei der Erfassung infizierter Tiere (WHO,1971).

Die KBR wurde hier nach der Technik von ALTON et al.(1975) ausgeführt. Zur Anwendung kam das Mikrotitersystem mit der Kältebindung bei 0° - 4°C. Die Seren wurden vor der Untersuchung 30 Minuten inaktiviert, Humanseren bei 56°C und Hundeseren bei 62°C. Meerschweinchenkomplement, Ambozeptor sowie Schaferythrozyten wurden von den Behring-Werken, Marburg, bezogen. Antikörpertiter ab 1:10 werden als positiv gewertet.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Serologische Befunde Hundeseren

Von 830 in der Serumlangsamagglutination (BSLA) getesteten Hundeseren agglutinierten 5 Seren von Haushunden (= 0,60 %) B.canis-Antigen bis zu einer Verdünnung von 1:100 vollständig (+++) und gelten als serologisch B.canis-positiv; zwei dieser 5 Seren (M 86, MA 42) agglutinierten bis zu einer Verdünnung von 1:200, ein Serum (M 92) bis zu einer Verdünnung von 1:400 unvollständig. Alle anderen Hundeseren waren negativ.
Eine Übersicht dieser Ergebnisse ist in Tab.3 , die genauen Endtiter in Tab.5 dargestellt.

Parallel dazu erfolgte die Untersuchung auf B.abortus-Antikörper. Von den 830 Hundeseren reagierten 7 andere Seren mit Titern zwischen 1:20 und 1:50, vier (= 0,48 %) erreichten einen positiven B.abortus-Titer von 1:40 ++++.
Keine Reagenten wurden bei Hunden aus der Gegend von Ulm, Stuttgart und Freiburg gefunden, dagegen war in Mannheim das Vorkommen relativ gehäuft (= 0,31 %).
Alle Hundeseren, die in der BSLA mit B.abortus-Antigen reagierten, wurden weiterhin mit Hilfe der KBR untersucht; vier (= 0,48 %) der 7 Reagenten hatten auch in der KBR Titer von 1:4 (3 x) und 1:8 (1 x).
Eine Übersicht der B.abortus-SLA-Reagenten ist in Tab.3 enthalten, die jeweils ermittelten genauen Endtiter mit klinischen Befunden sind aus Tab.6 zu ersehen.

Tab. 3: Ergebnisse Hundeseren der Antikörperbestimmung gegen B.canis und B.abortus in der Serumlangsamagglutination

Herkunft Haushunde	Anzahl Seren	BSLA mit B.canis-Antigen* 1:25	1:50	1:100	1:200	BSLA mit B.abortus-Antigen* 1:25	1:50
München	182	3	7	3			1
Ulm	95	3	4			-	
Stuttgart	50	3				-	
Lörrach	55	4	3			1	
Freiburg	78	5	1			-	
Karlsruhe	100	4	5				1
Mannheim	96	3	3	2		3	
Mikrobiologie	116	3				1	
Tierheim	8		1			-	
Beagles	50	1	5			-	
Summe:	830	29	29	5	ø	5	2

* Die Tabelle enthält nur vollständige Agglutinationen: B.canis +++
B.abortus ++++

Im Merkaptoäthanol-Test (MET) wurden alle Hundeseren untersucht, die in der BSLA einen Titer von ≧ 1:50 gegenüber B.canis hatten. Dabei reagierten alle 5 Hundeseren mit einem positiven BSLA-Titer (≧ 1:100) auch im MET. Die Titer betrugen hier 1:50 (zwei Seren), 1:100 (zwei Seren) und bei einem Serum 1:200. Von 29 Seren mit BSLA-Titern von 1:50 reagierten im MET 15 negativ sowie ein Serum in der Verdünnung von 1:100 und ein Serum bei 1:200. Den als positiv angesehenen Titer von 1:200 erreichten demnach nur 2 Seren (= 0,24 %). Eine Zusammenstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tab. 4.

Tab. 4: Ergebnisse der Antikörperbestimmung gegen B.canis im Merkaptoäthanol-Test

Herkunft Haushunde	MET mit B.canis-Antigen			negativ im MET
	1:50	1:100	1:200	
München	6	1	1	2
Ulm	2			2
Lörrach	2			1
Freiburg	-			1
Karlsruhe	1		1	3
Mannheim	1	2		2
Tierheim	-			1
Beagles	2			3
Summe:	14	3	2	15

Diese Ergebnisse lassen sich durch epidemiologische Untersuchungen ergänzen. Details sind jeweils für serologisch B.canis positive, verdächtige und fragliche Hunde in Tab. 5 dargestellt.

Tab. 5: Epidemiologische Daten sowie klinische Befunde von Hunden, die im BSLA bzw. MET mit B.canis-Antigen positiv, verdächtig und fraglich ausfielen.

	Herkunft		BSLA	MET	Rasse,Alter	klinische Befunde
positiv	M	92	1:100 (1:400)	1:200	Hirtenhd. 2 Jahre,m.	Babesiose;Mikrofilarien; Lymphkn.vergrößert;müde;
	M	86	1:100 (1:200)	1:50	Wachtel 4 m.	rez.Fieber,Lymphkn.vergr. Spondylitis;Polyarthritis
	M	144	1:100	1:50	Collie,2m.	Implantat entfernt;
	MA	42	1:100 (1:200)	1:100	Boxer,9m.	Mastocytom;klin.o.B.;
	Ma	32	1:100	1:100	Bastard,9m.	Otitis;Cubitis;klin.o.B.;
	KA	82	1:50	1:200	?	?
verdächtig	M	67	1:50	1:100	Boxer,9m.	Urämie,Cystitis;
	M	47	1:50	1:50	Dogge,4m.	Malabsorbtion,Lefzenekzem
	M	50	1:50	1:50	Boxer,7m.	Inappetenz,Erbrechen Apathie;Hautveränderungen
	M	94	1:50	1:50	DSH, 3m.	Caninus Fraktur;
	M	178	1:50	1:50	RHD, 8m.	Zwischenzehenabszess;
	UL	29	1:50	1:50	DSH, 2w.	Pyodermie,Hauttransplantat
	UL	59	1:50	1:50	DSH, 2m.	HD-Verdacht;
	LÖ	11	1:50	1:50	Pudel,11m.	Husten,Herzinsuffizienz;
	LÖ	36	1:50	1:50	Pudel,11m.	Herzinsuff.,Coxarthrose;
	KA	4	1:50	1:50	?	?
	MA	81	1:50	1:50	Boxer,11m.	Tumor testis;
	-		1:50	1:50	2 Beagles	klinisch o.B.;
fraglich	M	34	1:50	Ø	DSH, 2m.	Inappetenz,Apathie; Milzschwellung;
	M	166	1:50	Ø	Boxer,9m.	Räude,Spondylosis;
	UL	57	1:50	Ø	Basset, 5m.	Harnsteine;
	UL	12	1:50	Ø	Pudel, 13w.	eingeschläfert;
	LÖ	23	1:50	Ø	DSH, 2w.	kein Appetit,Erbrechen; Haarausfall;
	FR	70	1:50	Ø	Collie,4w.	Anämie,Erbrechen;
	MA	8	1:50	Ø	Boxer, 2m.	Falschohrstellung-OP;
	MA	48	1:50	Ø	Teckel,6w.	Hämometra;
	KA	-	1:50	Ø	3 Hunde ?	?
	Tierheim		1:50	Ø	Bastard,5m.	klinisch o.B.;
	Beagles		1:50	Ø	3 Hunde	klinisch o.B.;

(? = keine Angaben vorhanden)

In Tab. 5 sind typische Symptome einer B.canis-Infektion, wie sie aus Literaturangaben bei Haushunden bekannt sind, nur gelegentlich diagnostiziert worden (Lymphknotenvergrößerungen, Milzschwellung, Apathie, Erbrechen oder Spondylitiden). Hund No. M 86 erscheint sehr verdächtig, evtl. auch M 92.

Keiner der serologisch B.canis-positiven, verdächtigen oder fraglichen Hunde aus Tab. 5 hatte einen Antikörpertiter gegen B.abortus. Wenn Hundeseren reagierten im Test, dann entweder mit B.canis-Antigen oder mit B.abortus--Antigen, jedoch nie mit beiden zugleich.

Tab. 6: Epidemiologische Daten sowie klinische Befunde von Hunden, die in der BSLA bzw. KBR einen Antikörpertiter gegen B.abortus hatten.

Herkunft	BSLA	KBR	Rasse,Alter	klinische Befunde
M 34	1:50	1:4	Collie,7w.	Pyometra,Hysterektomie;
M 13	1:25	Ø	?	(Mikrobiologie-Serum)
LÖ 18	1:20	Ø	Dackel,10m.	Prostata; Juckreiz; Diabetes mel.;Durchfall
KA 38	1:50	1:4	?	?
MA 43	1:40	1:8	Pudel,7w.	Speichelzyste;
MA 65	1:40	1:4	Boxer,1w.	Kippohr-OP;
MA 86	1:25	Ø	Collie,3w.	Meniskus-OP;

(? = keine Angaben vorhanden)

3.2.2. Serologische Befunde menschliche Seren

Von 1200 in der Serumlangsamagglutination (BSLA) getesteten Humanseren agglutinierten 4 Seren (= 0,33 %) B.canis-Antigen bis zu einer Serumverdünnung von 1:100 vollständig (+++). Sie gelten als B.canis-positiv. Zwei dieser 4 Seren (Nr.3549, 166) agglutinierten unvollständig bis zu einer Verdünnung von 1:200. Weitere 9 Seren agglutinierten in einer Verdünnung von 1:50; sie werden jedoch als negativ angesehen.
Eine Übersicht dieser Ergebnisse findet sich in Tab.7, die Endtiter sind in Tab.8 enthalten.

Parallel dazu erfolgte die Untersuchung der Humanseren auf B.abortus-Antikörper. Von den 1200 Seren reagierten 8 andere Seren mit BSLA-Titern zwischen 1:20 und 1:320; zwei erreichten einen positiven Abortus-Titer von 1:160 mit vollständiger Agglutination (++++), nur ein Serum (Nr.3299) agglutinierte bis zu einer Verdünnung von 1:320. Eine Übersicht der Reagenten zeigt Tab.7; aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Seren entweder mit B.canis oder mit B.abortus-Antigen reagierten, jedoch nie mit beiden zugleich. Die jeweils ermittelten Endtiter gegen B.abortus sind in Tab.9 enthalten.

Alle 8 Seren mit BSLA-Titern gegen B.abortus wurden weiterhin mit der KBR untersucht. Hier reagierte ein einziges Patientenserum (= 0,083 %) positiv mit einem Titer von 1:128; alle anderen waren in der KBR negativ. Eine Zusammenstellung dieser serologischen Ergebnisse gegen B.abortus sowie die klinischen Beobachtungen der ermittelten Patienten findet sich in Tab.9 .

Tab. 7: Ergebnisse Humanseren der Antikörperbestimmung gegen B.canis und B.abortus in der Serumlangsamagglutination

Herkunft	Anzahl	BSLA mit B.canis-Antigen*		BSLA mit B.abortus-Antigen*		
		1:50	1:100	1:20	1:50	1:100
Seren von Patienten mit unklarem Fieber	700	2	1	4	2	2
Seren aus dem klinisch chemischen Labor	500	7	3	Ø	Ø	Ø
Summe:	1200	9	4	4	2	2

* Die Tabelle enthält nur vollständige Agglutinationen: B.canis +++
B.abortus ++++

Im Merkaptoäthanol-Test (MET) wurden alle Humanseren untersucht, die in der BSLA gegen B.canis einen Titer von 1:50 und höher aufwiesen. Alle 13 menschlichen Seren reagierten jedoch im MET negativ.

Die serologisch positiven Befunde der BSLA gegen B.canis lassen sich durch epidemiologische und klinische Angaben ergänzen. Eine Übersicht dazu gibt Tab.8.
Besonders die klinischen Befunde von Patient 3549, der aus der Gruppe der Patienten mit unklarem Fieber stammt, könnten auf eine B.canis-Infektion deuten. Die Untersuchung einer 2. Serumprobe 3 Wochen nach der ersten bestätigte die Ergebnisse der B.canis-SLA. Ebenso blieb die B.abortus-SLA negativ.
Beim Patienten 166 deutet die Splenomegalie auf eine mögliche B.canis-Infektion, die beiden anderen Patienten (2189,2174) werden als Zufallsbefunde angesehen.

Tab. 8: Epidemiologische Angaben sowie klinische Befunde bei Humanseren, die in der BSLA mit B.canis-Antigen positiv reagierten.

Serum-Nr.	B.c.SLA	Patient	klinische Befunde
3549	1:100 (1:200)	25j.Mann	Schüttelfrost,Fieberschübe, Gewichtsverlust,Nachtschweiß;
166	1:100 (1:200)	67j.Mann	Aortenklappenersatz/Herz-OP, Splenomegalie;
2139	1:100	62j.Frau	rezidivierende Struma;
2174	1:100	55j.Frau	Hypertonie, Adipositas;

Das Serum einer weiteren Patientin, die wegen eines malignen Lymphoms mit Hysterektomie, Cystektomie und Splenektomie in Behandlung war, zeigte eine unvollständige B.canis-SLA-Reaktion bis 1:800 (+ (ohne deutliche Agglutinate). Diese Patientin hatte nie Kontakt zu Hunden.

Bemerkenswert ist die Feststellung, daß keine der befragten Personen mit B.canis-Titer zu Hause einen Hund hielt. Der sehr verdächtige Patient 3549 erinnerte sich nur an einen Dackel und einen Berhardiner in der Nachbarschaft, zu denen er keinerlei Kontakt habe.

Tab. 9: Epidemiologische Daten sowie klinische Befunde von Menschen, die in der BSLA bzw. KBR einen Antikörpertiter gegen B.abortus hatten.

Serum	BSLA	KBR	Patient	klinische Befunde
3299	1:320	1:128	37j.Mann	"Morbus Bang"
3225	1:160	Ø	58j.Frau	Bauchschmerzen,Durchfall;
3214	1: 50	Ø	38j.Mann	Pancreatitis;
3571	1: 50	Ø	20j.Frau	Sepsis;
3568	1: 40	Ø	25j.Frau	Durchfälle,Galle;
3306	1: 20	Ø	16j.Junge	V.a.cerebrale Metastasen;
3530	1: 20	Ø	70j.Frau	Leukämie;
3606	1: 20	Ø	31j.Mann	Leukämie;

Bei dem einzigen B.abortus-Bang-Patienten 3299 in Tab.9 handelt es sich um einen 37-jährigen Mann aus einer Kleinstadt bei Ulm, der als Berater für Melkmaschinen tätig ist. Er kam im Januar 1979 in die Klinik und klagte über Kopf-, Brustschmerzen und zunehmenden Appetitmangel. Diagnostiziert wurde zunächst eine Segmentpneumonie, eine Splenomegalie und leichte Hepatomegalie.Die Diagnose Brucellose wurde serologisch gestellt.

Das Serum einer zweiten Patientin (3225) war in der KBR negativ, zeigte jedoch eine positive B.abortus-SLA-Reaktion von 1:160. Hier konnte mittels einer diagnostischen Einsendung eine Yersinia-Infektion (Y.enterocolitica-O-Gruppe V, Titer 1:640) nachgewiesen und damit die positive BSLA als Kreuzreaktion erklärt werden.

3.3. Diskussion

Vorliegende Arbeit sollte einen seroepidemiologischen Beitrag zur B.canis-Infektion bei Haushunden und Menschen aus Süddeutschland liefern.
Vor der Besprechung der serologischen Ergebnisse muß auf das selbst hergestellte B.canis-Antigen eingegangen werden, da offizielle Richtlinien dazu fehlen.

Als Kernprobleme der B.canis-Serologie erwiesen sich 1. Herstellung eines brauchbaren Antigens mit deutlicher Agglutination, 2. Vermeidung von Spontan- und Eigenagglutinationen und 3. Vorläufige Standardisierung der eigenen ermittelten Ergebnisse.

Bei der eigenen Antigenherstellung wurden zwei Methoden verwendet. Ein Antigen vom "mucoid"-Typ wurde angefertigt nach den Anleitungen von CARMICHAEL und KENNEY (1970), MOORE (1969) sowie WEBER (1976 a). Das zweite Antigen nach ALTON et al.(1975) war dagegen eher vom "granular"-Agglutinationstyp.
Nach eigener Erfahrung bei der Anwendung von beiden Antigentypen können CARMICHAEL und GEORGE (1976) bestätigt werden, die eine Beurteilung der serologischen Reaktionen mit einem "mucoid"-Antigen für schwierig halten. Nach meiner Beobachtung ist das Ablesen der serologischen Reaktion mit dem "granular"-Antigen einfacher, positive Kontrollen zeigen wasserklare Überstände und grobkörnige Agglutinate. Dieser Antigentyp wird in der Brucellose-Serologie angestrebt.

Eigenagglutinationen und spontane Agglutinationen in physiologischer Kochsalzlösung sind bei Bakterien in Rauhform bekannt (HALLMANN und BURKHARDT,1974).
Da B.canis von Natur aus nur in R-Form wächst, ist eine

optimale Antigenherstellung sowie deren Lagerung und Anwendung schwierig (ALTON et al.,1975). Viele Autoren benützen deshalb statt der üblichen Kochsalzlösung lieber PBS (CARMICHAEL und KENNEY, 1970; KRUEDENER,1976; MOORE, 1969; UEDA et al.,1974). Nur ALTON et al.(1975) verwenden den kochsalzfreien Soerensen-Puffer für die Suspension des Antigenstammes.
Eigenagglutinationen, die im eigenen BSLA-Test häufig bei Hundeseren auftraten, konnten nach eigenen Versuchen unterdrückt werden, wenn nicht nur die Stammantigensuspension, sondern auch das Gebrauchsantigen mit Soerensen-Puffer hergestellt wird. Es erwies sich auch als vorteilhaft, im MET anstatt der angegebenen 3,5 %-igen nur physiologische (0,9 %) Kochsalzlösung zu verwenden; hier trug die Senkung des Salzgehaltes dazu bei, Eigenagglutinationen zu vermeiden.

Eine weitere wesentliche Fehlerquelle in seroepidemiologischen B.canis-Untersuchungen sehen CARMICHAEL und GEORGE (1976) in der Anwendung eines nicht einheitlichen Gebrauchsantigens. Die jeweils ermittelten Ergebnisse sind nicht vergleichbar und lassen Fehlinterpretationen zu. Die Dichte des Gebrauchsantigens wurde deshalb an die bisher in der Bundesrepublik geübte Praxis in der B.canis-Serologie angeglichen (KRUEDENER, 1976; WEBER, 1976 a). Die gleiche Dichte verwendet auch MOORE (1969). Das hier in dieser Arbeit benützte Gebrauchsantigen erzielte übereinstimmende Antikörpertiter mit B.canis-Referenzseren.

Zum Nachweis von B.canis-Antikörpern wurde in Anlehnung an andere Autoren in seroepidemiologischen Studien die BSLA als klassische Methode der Brucellose-Serologie in vorliegender Arbeit benützt und als Suchtest eingesetzt. In der BSLA gegen B.canis agglutinierten 5 Seren (=0,60%) von Haushunden in einer Verdünnung von 1:100 vollständig,

davon ein Serum bis 1:200 und eines bis zu einer Verdünnung von 1:400 unvollständig. Zumindest bei zwei Hunden (M 86, M 92) deuten auch die klinischen Befunde auf B.canis-Infektionen.
Von 1200 Humanseren agglutinierten 4 Seren (= 0,33 %) mit Titern von 1:100 vollständig. Bei zwei dieser Patienten (3549, 166) stimmen auch die Symptome überein mit klinischen Befunden aus Literaturangaben.
Diese ermittelten B.canis-Titer von 1:100 sehen einige Autoren als serologischen Nachweis für eine B.canis-Infektion an (CARMICHAEL und GEORGE, 1976; RIFKIN et al., 1978), während andere mindestens B.canis-Titer von 1:200 voraussetzen (FLORES-CASTRO und SEGURA,1976; MOORE,1969).

Zur Abklärung der hier ermittelten BSLA-Befunde wurde der Merkaptoäthanol-Test eingesetzt. In diesem Test sind zwar keine IgM-Antikörper als Ausdruck einer frischen akuten Infektion zu erfassen, dafür werden eher die Merkaptoäthanol-resistenten IgG-Antikörper nachgewiesen, die erst etwa 2 Wochen später auftreten. IgG-Antikörper werden in der Brucellose-Diagnostik als mehr spezifisch für eine Infektion mit Brucellen angesehen (ALTON et al., 1975; RICE, 1968). Den IgG-Antikörpern dürften auch bei B.canis-Infektionen als Ausdruck einer chronischen Infektion größere Bedeutung zukommen, da B.canis-Bakteriämien bei Hunden 18 Monate (CARMICHAEL und KENNEY, 1970) bzw. bis 33 Monate (MOORE, 1969) andauern sollen.
Mit Hilfe des MET wurden in vorliegender Arbeit nur bei 2 Seren von Haushunden (= 0,24 %) der serologische Nachweis einer B.canis-Infektion mit Titern von 1:200 erbracht. Eines dieser beiden Seren hatte bereits eine unvollständige BSLA-Reaktion bis 1:400 (M 92), während das andere (KA 82) aus dem Pool von 29 Seren mit 1:50-Titern stammte. Einige Hunde bleiben verdächtig mit MET-Titern von 1:100 (MA 32, MA 42, M 86?), während alle anderen Hunde negativ sind.

Insgesamt gesehen müssen die vier Humanseren mit positiven B.canis-SLA-Titern als negativ angesehen werden, da sie im MET überhaupt keine Titer gegen B.canis zeigten und die befragten Personen auch keinerlei Kontakt zu Hunden hatten. Die Erwartung, daß bei einem Teil der Patienten mit unklarem Fieber differentialdiagnostisch eine B.canis-Infektion in Frage käme, hat sich nicht erfüllen können. Die wenigen menschlichen B.canis-Erkrankungen,die von infizierten Hunden ausgingen, sind bisher nur in den USA diagnostiziert worden (MUNFORD et al.,1975; RIFKIN et al.,1978; SWENSON et al.,1972).
Im MET konnten bei Hundeseren nur wenige und bei Humanseren keine BSLA-Reagenten bestätigt werden. Eine Erklärung dafür kann sein, daß die Aussagekraft von B.canis-SLA Titern über 1:200 zwar unbestritten ist, jedoch im Titerbereich von 1:50 bis 1:200 unter Umständen falschpositive Agglutinationen auftreten können. Diese sind hauptsächlich durch Eigenagglutinationen, durch unspezifische Reaktionen z.B. mit hämolytischen Seren und durch evtl. Kreuzagglutinationen mit heterologen Bakterien bedingt und bekannt (ALTON et al.,1975; CARMICHAEL und GEORGE, 1975).

Hohe B.canis-Infektionsraten mit typischem Verwerfen sowie Sterilitäten bei weiblichen und männlichen Tieren sind in Beaglezwingern aus den USA, der Bundesrepublik, Japan und der CSSR beschrieben. WEBER (1976 b) fand in der Bundesrepublik 3 von 10 Beaglehaltungen infiziert. Die in vorliegender Arbeit getesteten 50 Seren von Beagles einer Ulmer Haltung waren in der BSLA und im MET negativ. B.canis-Infektionen scheinen demnach in Beaglezuchten bestandsweise verschieden vorzukommen.

Eine geringe B.canis-Infektionsrate bei Haushunden hatten WEBER und SCHLIESSER (1978) in der Bundesrepublik in Gießen gefunden. Von 1000 Seren reagierten in der BSLA 4,3 % mit B.canis-Titern von = 1:100; mit ergänzenden serologi-

schen Methoden konnten 2 Hunde (= 0,2 %) als positiv bestätigt werden. Dieser Wert zeigt Übereinstimmung mit der hier ermittelten Rate von 0,24 % bei Haushunden aus mehreren süddeutschen Städten. Demnach ist die B.canis-Infektion bei Haushunden in der Bundesrepublik Deutschland nur sporadisch verbreitet.
WEBER und BRUNNER (1977) untersuchten 1915 Personen in Gießen auf Antikörper gegen B.canis. Von 6 Personen mit BSLA-Titern von ≥ 1:100 konnten 3 mit zusätzlichen Tests abgesichert werden. Diese B.canis-SLA-Rate von 0,31 % aus Gießen stimmt mit dem hier in Ulm gefundenen BSLA-Wert von 0,33 % überein.

Sporadische B.abortus-Infektionen konnten in dieser Studie auch bei 4 Haushunden (= 0,48 %) mit niederen positiven B.abortus-SLA-Titern von 1:40 bis 1:50 nachgewiesen werden; die KBR bestätigte diese Befunde mit Titern von 1:4 und 1:8. Von 1200 untersuchten menschlichen Seren war ein einziger Morbus Bang-Patient (= 0,083 %) positiv in BSLA und KBR.

Die gesamten durchgeführten seroepidemiologischen Untersuchungen zeigen, daß Antikörper gegen Brucella canis und gegen Brucella abortus bei Haushunden nur sporadisch und bei Menschen noch seltener als beim Hund in Süddeutschland vorkommen.
In dem vergleichenden Test gegen B.abortus konnte dargestellt werden, daß die ermittelten Seren entweder mit B.canis-Antigen oder mit B.abortus-Antigen reagierten, jedoch nie mit beiden zugleich. Beide Brucellose-Formen laufen völlig selbständig und unabhängig nebeneinander ab.

4. Zusammenfassung

Für eine seroepidemiologische Untersuchung zum Vorkommen von Antikörpern gegen Brucella canis wurde ein eigenes spezifisches Antigen hergestellt und standardisiert.

Die Untersuchung umfaßte 830 Hundeseren (656 Haushunde aus mehreren süddeutschen Städten, 116 Seren aus einem mikrobiologischen Institut, 8 Tierheimhunde sowie 50 Seren aus einem Beagle-Zwinger).
Weiterhin wurden 1200 Humanseren getestet (700 Seren von Patienten mit unklaren fieberhaften Erkrankungen und 500 Seren aus dem klinisch-chemischen Labor).
Alle ermittelten serologischen Befunde wurden mit klinischen Angaben ergänzt.

Im Langsamagglutinations-Test (BSLA) reagierten 5 Seren von Haushunden (= 0,60 %) sowie 4 menschliche Seren (= 0,33 %) mit einem positiven Antikörpertiter von 1:100 gegen B.canis. Die untersuchten Beagles waren negativ.
Mit dem zusätzlichen Merkaptoäthanol-Test (MET) konnten 2 Seren von Haushunden (= 0,24 %) mit positiven Titern von 1:200 bestätigt werden. Die Humanseren waren im MET negativ.
Im parallel durchgeführten BSLA-Test zum Vorkommen von Antikörpern gegen B.abortus agglutinierten 4 andere Seren von Haushunden (= 0,48 %) mit niederen positiven Titern von 1:40 bis 1:50. Diese 4 Hundeseren hatten auch in der Komplementbindungsreaktion (KBR) Titer von 1:4 (3x) und 1:8 (1x). Bei den Humanseren wurde nur ein Morbus Bang-Patient (= 0,083 %) mit positiver BSLA (1:320) und KBR (1:128) ermittelt.

Aufgrund vorliegender Ergebnisse wird angenommen, daß Infektionen mit Brucella canis und Brucella abortus bei Haushunden nur sporadisch und bei Menschen noch seltener als beim Hund in Süddeutschland vorkommen.

Summary

Seroepidemiological investigations on the Brucella canis-infection in pet dogs and man of Southern Germany

A specific antigen was produced and standardized for a serological survey on the occurence of antibodies to Brucella canis.
The investigation included 830 sera from dogs (656 pet dogs from several cities of Southern Germany, 116 sera from a microbiological institute, 8 dogs from pet home and 50 sera from a beagle kennel).
Furthermore 1200 human sera were tested (700 sera from patients with unknown feverish diseases and 500 sera from a clinical chemistry laboratory).
The serological findings were completed by clinical datas.

In the tube agglutination test (TAT) 5 sera from pet dogs (= 0, 60 %) and 4 human sera (= 0,33 %) reacted with positive antibody-titers of 1:100 to Brucella canis. The examined beagles were negative. With the additional mercaptoaethanol test (MET) 2 sera from pet dogs (= 0,24%) could be confirmed with positive titers of 1:200. The human sera were negative in the MET.
In the TAT for the occurence of antibodies to Brucella abortus which was conducted simultaneously, 4 other sera from pet dogs (= 0,48 %) agglutinated with low positive titers of between 1:40 and 1:50. These 4 dog sera had titers of 1:4 (3x) and 1:8 (1x) in the complement fixation technique (CFT). When testing the human serum samples only one Morbus Bang patient (= 0,083 %) was detected with positive TAT (1:320) and CFT (1:128).

According to these results it is concluded that infections with Brucella canis and Brucella abortus occur only sporadically in pet dogs and even less often in man in Southern Germany.

5. Literaturverzeichnis

ALTON, G.G., J. GULASKHARAM, 1974: Brucellosis as a human health hazard in Australia.
Austral. Vet. J. 50, 209.

ALTON, G.G., L.M. JONES, D.E. PIETZ, 1975: Laboratory techniques in brucellosis.
WHO Monograph Series No. 55, 2 nd.ed., Geneva.

AZUMA, R., Y. ISAYAMA, 1973: Canine brucellosis.
J. Jap. Vet. Med. Assoc. 26, 111.

BANG, B., 1897: Die Ätiologie des seuchenhaften (infektiösen) Verwerfens.
2. Tiermed. 1, 241 (zit. nach CHRISTIE, 1969).

BARG, L., A.M. GODOY, J.N. PERES, 1977: Investigation of agglutinins for Brucella canis.
Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais 29, 31.

BLANKENSHIP, R.M., J.P. SANFORD, 1975: Brucella canis. A cause of undulant fever.
Amer. J. Med. 58, 424.

BRAUN, W., A. BONESTELL, 1947: Independent variation characteristics in Brucella abortion variants and their detection.
Amer. J. Vet. Res. 8, 386.

BROWN, J., J.L. BLUE, R.E. WOOLEY, D.W. DREESEN, 1976 a: Brucella canis infectivity rates in stray and pet dog populations.
Amer. J. Publ. Hlth. 66, 889.

BROWN, J., J.L. BLUE, R.E. WOOLEY, D.W. DREESEN, L.E. CARMICHAEL, 1976 b: A serologic survey of a population of Georgia dogs for Brucella canis and an evalution of the slide agglutination test. J. Amer. vet. med. Ass. 169, 1214.

BUCHANAN, R.E., N.E. GIBBONS, 1974: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th edition. Williams and Wilkins Company, Baltimore.

CARMICHAEL, L.E., 1966: Abortions in 200 beagles. News Report. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 1126.

CARMICHAEL, L.E., 1968: Burcella abortion in bitches. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 35.

CARMICHAEL, L.E., D.W. BRUNER, 1968: Characteristics of a newly-recognized species of Brucella responsible for infectious canine abortions. Cornell Vet. 58, 579.

CARMICHAEL, L.E., L.W. GEORGE, 1976: Canine brucellosis. Newer knowledge. International Symposium on Brucellosis (II), Rabat 1975. Develop. Biol. Standard. 31, 237, S. Karger Verlag Basel.

CARMICHAEL, L.E., R.M. KENNEY, 1968: Canine abortion caused by Brucella canis. J. Amer. vet. med. Ass. 152, 605.

CARMICHAEL, L.E., R.M. KENNEY, 1970: Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis and immun reponse. J. Amer. vet. med. Ass. 156, 1726.

CASELITZ, F.H., V. FREITAG, P. LÜBCKE, 1975: Diagnostische Aspekte bei der menschlichen Brucellose. Dtsch. Med. Wschr. 100, 429.

CHRISTIE, A.B., 1969: Infectios diseases; epidemiology and clinical practice. E. u. s. Livingstone L.T.D., Edinburgh und London.

CORBEL, M.J., W.J.B. MORGAN, 1975: Proposal for minimal standards for describtion of new species and biotypes of the genus Brucella. Int. J. Syst. Bact. 25, 83.

DENNY, H.R., 1972: Brucellosis in horses. Vet. Rec. 186.

DEYOE, B.L. 1970: Studies on the pathogenesis of a canine abortion agent (Brucella canis) in dogs and other domestic animals. Ph. D. Thesis, Iowa State University, Ames, USA.

DIAZ, R., N. BOSSERAY, 1973: Identification d'un composé antigénique spécifique de la phase rugueuse (R) des Brucella. Ann. Rech. Vet. 4, 283.

DIAZ, R., L.M. JONES, J.B. WILSON, 1968: Antigenetic relationship of a gram-negativ organism causing canine abortion to smooth and rough Brucellae. J. Bact. 95, 618.

DUBRAY, G.,1972: Etude ultrastructurale des bactéries de colonies lisses (S) et rugueuse (R) du genre Brucella. Ann. Inst. Past. 123, 171.

EHRLEIN, H.J., I.R. SCHIMMELPFENNIG, W. BISPING, 1963: Ein Beitrag zur Brucellose des Hundes. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 70, 353.

EL BAHRI, L., F. BEN OSMAN, A. CHADLI, 1970: Enquête sérologique sur la brucellose canine du Tunesie. Arch. Inst. Past. (Tunis) 47, 315.

ENGLEHARDT, C.E.M., 1974: Incidencia de Brucella canis en Perros en el distritio de Chiclayo. Thesis Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Peru.

FAO / WHO, 1971: Expert committee on brucellosis. WHO Org. techn. Rep. Ser. No. 464.

FLORES-CASTRO, R., R. SEGURA, 1976: A serological and bacteriological survey of canine brucellosis in Mexico City. Cornell Vet. 66, 347.

FLORES-CASTRO, R., F. SUAREZ, C. RAMIREZ-PFEIFFER, L.E. CARMICHAEL, 1977: Canine brucellosis: bacteriological and serological investigations of naturally infected dogs in Mexico City. J. Clin. Microbiol. 6, 591.

FREDRICKSON, L.E., C.E. BARTON, 1974: A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitain area. J. Amer. vet. med. Ass. 165, 987.

GALPHIN, S.P., 1977: A serologic survey for Brucella canis in dogs on a military base. J. Amer. vet. med. Ass. 171, 728.

GEORGE, L.W., L.E. CARMICHAEL, 1974: A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis.
Amer. J. Vet. Res. 35, 905.

GODOY, A.M., J.N. PERES, L. BARG, 1977: Isolation of Brucella canis in Minas Gerais, Brazil.
Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais 29, 35.

HAHN, B., 1979: Auftreten und Tilgung einer Brucella canis-Infektion in einer Beagle-Zucht.
Prakt. Tierarzt 8, 668.

HALL, R.F., 1974: A case of open brucellosis in the dog.
Vet. Record, 454.

Hall, W.H., 1971: Epidemic brucellosis in beagles.
J. inf. Dis. 124, 615.

HALLMANN, L., F. BURKHARDT, 1974: Klinische Mikrobiologie.
4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

HARRIS, A.M., M.L. HORTON, R.M. LETSCHER, E.E. CONNEL, A.E. NEW, 1974: Enzootic Brucella canis - an occult disease in a research canine colony.
Lab. Anim. Sci. 24, 796.

HAYASHI, T.A., Y. ISAYAMA, 1977: Detection of Brucella canis-infection in dogs in Hokkaido.
Microbiol. Immunol. 21, 295.

HELLMANN, E., H.U. SPRENGER, 1978: Ein Beitrag zur Brucella suis-Infektion des Hundes.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 385.

HENDERSON, R.A., B.F. HOERLEIN, T.T. KRAMER, M.E. MEYER, 1974: Discospondylitis in three dogs infected with Brucella canis.
J. Amer. vet. med. Ass. 165, 451.

HIL, W.A., G.L.VAN HOOSIER, R.D. WENDE, 1968: Clinical, epidemiological and microbiological studies of Brucella-like organism in a canine production colony.
18 th. Ann. Amer. Ass. Lab. Anim. Sci. Washington, (zit. nach CARMICHAEL und BRUNER, 1968).

HOFF, G.L., J.B. NICHOLS, 1974: Results of serologic surveys for canine brucellosis in Florida veterinarians.
Florida Vet. J. 4, 22.

HOFF, G.L., N.J. SCHNEIDER, 1975: Serologic survey for agglutinins to Brucella canis in Florida residents.
Amer. J. trop. med. Hyg. 24, 157.

HOFF, G.L., W.J. BIGLER, D.O.TRAINER, J.G. DEBBIE, G.M. BROWN, W.G. WINKLER, S.H. RICHARDS, M. REARDON, 1974: Survey of selected carnivore and opossum serums for agglutinins to Brucella canis.
J. Amer. vet. med. Ass. 165, 830.

HOOSIER, G.L.VAN, N.Mc. CORMICK, W.H. HILL, 1970: Enzootic abortion in a canine colony III. Bacteremia, antibody response and merkaptoaethanol sensivity of agglutinins in naturally infected dogs.
Lab. Anim. Care 20, 964.

HOUSE, C., F.F. BADAKSH, 1974: Slide test for Brucella canis.
J. Amer. vet. med. Ass. 165, 1046.

JONES, L.M., M. ZANARDI, D. LEONG, J.B. WILSON, 1968: Taxonomic position in the genus Brucella of the causative agent of canine abortion.
J. Bacteriol. 95, 625.

KIMBERLING, C.V., D.W. LUCHSINGER, R.K. ANDERSON, 1966: Three cases of canine brucellosis.
J. Amer. vet. med. Ass. 148, 900.

KRUEDENER, R. VON, 1974: Isolierung und Bestimmung von Brucella canis aus einem Beagle-Bestand.
Zbl. Vet. Med. B 21, 307.

KRUEDENER, R. VON, 1976: Ergebnisse serologischer und bakteriologischer Untersuchungen von Hundeblutproben auf Brucella canis.
Zbl. Vet. Med. B 23, 555.

LEWIS, G.E., 1972: A serologic survey of 650 dogs to detect titers for Brucella canis (Brucella suis, type 5).
J. Amer. Anim. Hosp. Ass. 8, 102.

LEWIS, G.E., J.K. ANDERSON, 1973: The incidence of Brucella canis antibodies in sera of recruits.
Amer. J. Publ. Hlth. 63, 204.

LEWIS, G.E., M.H. CRUMRINE, P.B. JENNINGS, B.L. FARISS, 1973: Therapeutic value of tetracycline and ampicilline in dogs infected with Brucella canis.
J. Amer. vet. med. Ass. 163, 239.

LOVEJOY, G.S., H.D. CARVER, I.K. MOSELY, M. HICKS,1976: Serosurvey of dogs for Brucella canis infection in Memphis, Tennessee. Amer. J. Publ. Hlth. 66, 175.

LOWRIE, D.B., J.F. KENNEDY, 1972: Erythritol and Threitol in canine placenta: possible implication in canine brucellosis. FEBS letters 23, 69.

MEYER, M.E., 1969: Brucella organism isolated from dogs: comparison of characteristics of members of the genus Brucella. Amer. J. Vet. Res. 30, 1751.

MONROE, P.W., S.L. SILBERG, P.M. MORGAN, M. ADESS, 1975: Seroepidemiological investigation of Brucella canis antibodies in different human population goups. J. clin. Microbiol. 2, 382.

MOORE, J.A., 1969: Brucella canis infection in dogs. J. Amer. vet. med. Ass. 155, 2034.

MOORE, J.A., M. BENNETT, 1967: A previously undescribed organism associated with canine abortion. Vet. Rec. 80, 604.

MOORE, J.A., B.N. GUPTA, 1970: Epizootology, diagnosis and control of Brucella canis. J. Amer. vet. med. Ass. 156, 1737.

MOORE, J.A., B.N. GUPTA, G.H. CONNER, 1968: Eradication of Brucella canis infection from a dog colony. J. Amer. vet. med. Ass. 153, 523.

MORGAN, W.J.B., 1977: Brucellosis in Britain.
Ann. Sclavo 19, 35.

MORGAN, W.J.B., M.J. CORBEL, 1976: Recommendations for the describtion of spezies and biotypes of the genus Brucella.
International Symposium on Brucellosis (II), Rabat 1975,
Develop. biol. Stand. 31, 27.

MORISSET, R., W.W. SPINK, 1969: Epidemic canine brucellosis due to a new species, Brucella canis.
Lancet II, 1000.

MORSE, E.V., 1951: Canine brucellosis - a review of literature.
J. Amer. vet. med. Ass. 119, 304.

MUNFORD, R.S., R.E. WEAVER, C.H. PATTON, J.C. FEELEY, R.A. FELDMANN, 1975: Human disease caused by Brucella canis.
A clinical and epidemiological study of 2 cases.
J. Amer. vet. med. Ass. 231, 1267.

MYERS, D.M., A.A. SINIUK, 1970: Preliminary report on the developement of a diffusion-in-gel method for the diagnosis of ram epididymitis.
Appl. Microbiol. 19, 335.

MYERS, D.M., V.M. VARELA-DIAZ, E.A. COLTORTI, 1974: Comparative sensivity of gel-diffusion and tube agglutination tests for the detection of Brucella canis antibodies in experimentally infected dogs.
Appl. Microbiol. 28, 1.

NICOLETTI, P.L., B.R. QUINN, 1967: Canine to human transmission of brucellosis.
N. Y. State J. Med. 67, 2886.

OSTERTAG, H.G., H. MAYER, 1958: Die Verbreitung der Schafbrucellose bei Herdenhunden.
Monh. Tierhlkde. 7, 57.

PANNWITZ, S., R. MEISSNER, 1971: Untersuchungen zum Vorkommen von Brucellen- und Leptospireninfektionen bei Hunden.
Monh. Vet. Med. 26, 313.

PARNAS, J., 1973: Die moderne Diagnostik der menschlichen Brucellose.
Triangel 11, 137.

PARNAS, J., W. KRÜGER, E. TÖPPICH, 1966: Die Brucellose des Menschen.
V E B Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.

PERCY, D.H., I.N. EGWU, A.M. JONAS, 1972: Experimental Brucella canis-infection in the monkey (Macaca arctoides).
Can. J. comp. Med. 36, 221.

PICKERILL, P.A., 1970: Canine brucellosis: serological , host range, and epidemiological studies.
Ph. D. Thesis, Cornell University, Ithaca
(zit. nach WEBER, 1976 a).

PICKERILL, P.A., L.E. CARMICHAEL, 1972: Canine brucellosis: control programs in commercial kennels and effect on reproduction.
J. Amer. vet. med. Ass. 160, 1607.

RICE, C.E., 1968: Comparative serology of domestic animals.
Adv. Vet. Sci. 12, 105.

RIECKE, J.A., H.E. RHOADES, 1975: Brucella canis isolated from the eye of a dog.
Amer. J. vet. med. Ass. 166, 583.

RIFKIN, G.D., R.B. SUPENA, J.A. AXELSON, 1978: Case report. Brucella canis bacteremia: a case with negative B.canis agglutinins.
Amer. J. Med. Sci. 276, 113.

ROLLE, M., A. MAYR, 1978: Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler; Lehrbuch für Praxis und Studium.
4. Auflage, neu bearbeitet von P.A.Bachmann; Enke Verlag, Stuttgart.

ROUX, J., 1979: Epidémiologie et prévention de la brucellose.
Bull. Wld. Hlth.Org. 57, 179.

SCHOEB, T.R., R. MORTON, 1978: Scrotal and testical changes in canine brucellosis: a case report.
J. Amer. vet. med. Ass. 172, 598.

SCHWARZ, H., 1954: Verwerfen beim Hund infolge Abortus Bang.
Monh. Vet. Med. 9, 152.

SEBEK, Z., I. SIKORA, J. HOLDA, J. KOMAREK, 1976: Serological demonstration of Brucella canis in the breeding of laboratory dogs of the beagle in Czechoslovakia.
Epidemiol. Microbiol. Immunol. 25, 129.

SORIANO, F., M.C. PONTE MIRAMONTES, J.M. ALES, P. GARCIA--HIERRO, A. RUBIO, 1978: Anticuerpos anti-Brucella canis en differentes gruppos de poblacion.Una investigacion seroepidemiologica.
Rev. Clin. Esp. 149, 247.

SWENSON, R.M., L.E. CARMICHAEL, K. KUNDY, 1972: Human infection with Brucella canis.
Ann. Int. Med. 76, 435.

SYKORA, L., J. HOLDA, Z. SEBEK, J. KOMAREK, 1977: Eradication of brucellosis in the beagle.
Vet. Med. (Prag) 22, 363.

TAUL, L.K., H.J. POWELL, O.E. BAKER, 1967: Canine abortion due to an unclassified gram-negative bacterium.
Vet. Med. Small Anim. Clin. 62, 543

TRAUM, J.E., 1914: Rep. Chief. Bur. Anim. Industry.
(zit. nach CHRISTIE, 1969).

UEDA, K., J. SAEGUSA, K. FUJIWARA, S. MUTO, K. OKADA, A. HASEGAWA, S. SAEGUSA, K. USUI, 1974: Detection of Brucella canis-infection in dogs from Tokyo area.
Jap. J. vet. Sci. 36, 539.

VANEK, E., 1976: Epidemiologische - serologische Untersuchungen über die Brucellose und das Q-Fieber in Kenia - Ostafrika. Ein Beitrag zur geographischen Mikrobiologie.
Habilitationsschrift Universität Ulm.

VARELA-DIAZ, V.M., D.M. MYERS, 1979: Occurents of antibodies to Brucella canis in rural inhabitants of Corrientes and Neuquen provinces,Argentina.
Amer. J. trop. Med. Hyg. 28, 110.

VERGER, J.M., M. GATE, M. PIECHAUD, R. CHATELAIN, J. RAMISSE, J. BLANCOU, 1975: Isolement de Brucella suis biotype 5 à Madagascar, chez une chienne. Validité du nom d'espèce Brucella canis. Ann. Microbiol. 126, 57.

WEBER, A., 1976 a: Untersuchungen zur mikrobiologischen Diagnose und Epidemiologie der Brucella canis-Infektion des Hundes. Hailitationsschrift Universität Gießen.

WEBER, A., 1976 b: Untersuchungen über die Verbreitung von Infektionen mit Brucella canis bei Beagle-Hunden in der Bundesrepublik Deutschland. Fortschr. Vet. Med. 25, 272.

WEBER, A., E. BALKE, 1978: Nachweis von Brucella canis mit Hilfe fluoreszierender Antikörper. Zbl. Vet. Med. B 25, 114.

WEBER, A., H. BRUNNER, 1977: Seroepidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Antikörpern gegen Brucella canis beim Menschen. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A 238, 237.

WEBER, A., N.A. HUSSEIN,,1976: Der indirekte Immunofluoreszenztest zum Nachweis von Brucella canis-Infektionen bei Beagle-Hunden. Zbl. Vet. Med. B. 23, 151.

WEBER, A., H. KRAUSS, 1975: Über die Brauchbarkeit des Agargel-Präzipitationstestes zum Nachweis von Brucella canis-Infektionen bei Beagle--Hunden. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 88, 425.

WEBER, A., H. KRAUSS, 1977: Zum serologischen Nachweis von Brucella canis-Infektionen mittels Komplementbindungsreaktion.
Zbl. Vet. Med. B. 24, 746.

WEBER, A., TH. SCHLIESSER, 1978: Untersuchungen zum Vorkommen von Antikörpern gegen Brucella canis bei Haushunden der Bundesrepublik Deutschland.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 91, 28.

WESTPHAL, W., 1959: Serologische Untersuchungen über die Brucellose-Infektion von Hunden, welche in ländlicher Gemeinschaft mit Brucella abortus infizierten Rindern leben.
Vet. Med. Dissertation, Humboldt Universität Berlin.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 1971: Joint FAO/WHO Expert committee on brucellosis, 5 th. report.
Techn. Rep. Ser. No. 464, Geneva.

WOOLEY, R.E., P.L. HITCHCOCK, J.L. BLUE, M.A. NEUMANN, J. BROWN, E.B. SHOTTS, 1978: Isolation of Brucella canis from a dog seronegativ for brucellosis.
J. Amer. vet. med. Ass. 173, 387.

WUNDT, W., W.J.B. MORGAN, 1975: International committee on systematic bacteriology. Subcommittee on taxonomy of Brucella.
Int. J. Syst. Bact. 25, 235.

YAMAUCHI, C., T. SUZUKI, T. NOMURA, Y. KUKITA, T. IWAKI, Y. KAZUNO, A, GHODA, 1974: Canine brucellosis in a beagle breeding colony.
Jap. J. vet. Sci. 36, 175.

ZERFASS, H., 1964: Der Einbruch der Melitensis-Infektion in Deutschland und ihre Bekämpfung. Ärztl. Praxis, 16. Jahrgang, 594.

Am Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. E. Vanek meinen herzlichen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung eines ausgezeichneten Arbeitsplatzes und die überaus freundliche Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit.

An dieser Stelle möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. DDr.h.c. A. Mayr und Herrn Prof. Dr. P.A. Bachmann bedanken, daß diese Arbeit zum ordentlichen Promotionsverfahren der Tierärztlichen Fakultät übernommen wurde.

Weiterhin bedanke ich mich gerne bei der gesamten Belegschaft der Sektion für Infektionskrankheiten für die bereitwillige Aufnahme und Einarbeitung in Arbeitsmethoden eines bakteriologischen und serologischen Labors.

Lebenslauf

Am 15.Oktober 1950 wurde ich in Freiburg / Breisgau geboren. Die Eltern sind Alfred Wintermantel, Versicherungsangestellter, und dessen Ehefrau Erna, geb. Graf, aus Ihringen am Kaiserstuhl.

Von 1957 bis 1962 besuchte ich die Volksschule in Ihringen und wechselte dann zum Martin-Schongauer-Gymnasium nach Breisach / Rhein, wo ich im Juni 1970 mein Abitur bestand. Als Sanitäter leistete ich den Wehrdienst von Oktober 1970 bis März 1972, danach war ich Krankenpflegehelfer in der Hautklinik Freiburg.

Mein Tiermedizinstudium begann ich im Wintersemester 1972/73 in München, wo ich auch das Staatsexamen im Wintersemester 1977/78 ablegte. Die praktische Ausbildung während des Studiums erhielt ich in der Universitäts-Tierklinik für Geburtshilfe in München, am Schlacht- und Viehhof in Ulm/Donau und bei Dr. Rudolph, Nersingen. Die Approbation als Tierarzt bekam ich im April 1978.